

VESIHALLITUS—NATIONAL BOARD OF WATERS, FINLAND

Tiedotus
Report

204

JORMA KUPARINEN

**SULFIITTISELLULOOSATEHTAAN JÄTEVESIEN
JA ERÄIDEN RASKASMETALLI- JA
ORGAANISTEN YHDISTEIDEN VAIKUTUS
VESISTÖN BAKTEERITOIMINTAAN**

HELSINKI 1981

3-13
37-101

Tekijä on vastuussa julkaisun sisällöstä, eikä siihen voida vedota vesihallituksen virallisena kannanottona

VESIHALLITUKSEN TIEDOTUKSIA koskevat tilaukset: Valtion painatuskeskus PL 516, 00101 Helsinki 10,
puh. 90-539011/julkaisutilaukset

ISBN 951-46-5071-9
ISSN 0355-0745

SISÄLLYSLUETTELO

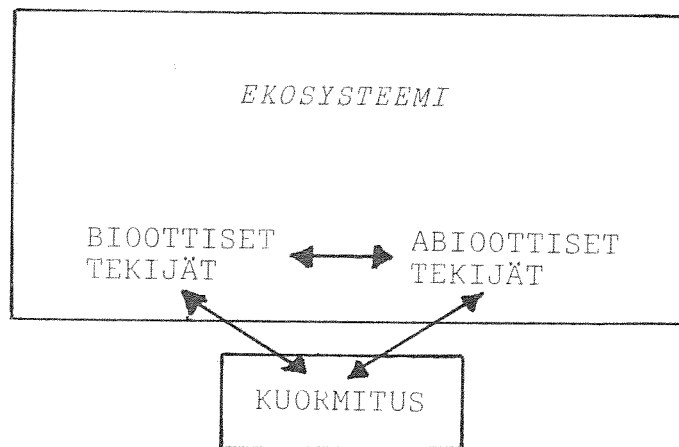
	Sivu
1 JOHDANTO	5
1.1 Toksisuus-toksisuustestit	5
1.11 Kalat ja eläinplankton	7
1.12 Kasviplankton	7
1.13 Bakteerit	8
1.2 Ekologinen relevanssi	9
1.3 Tutkimuksen tarkoitus ja koejärjestely	10
2 G.A. SERLACHIUS OY:N JÄTEVESIEN VAIKUTUS HETEROTROFISTEN BAKTEERIEEN HAJOTUSNOPEUTEEN	10
2.1 Aineisto ja menetelmät	10
2.11 Näytteenotto	10
2.12 Jätevesilisäykset	11
2.13 Vesistö- ja jätevesinäytteistä mää- ritetyt muuttujat	11
2.2 Tulokset	12
2.21 Näytteeseen lisätyn glukoosipitoisuu- den tason määrittäminen	12
2.22 Hajotusnopeuden mittaamiseen käytetyn inkubointiajan määrittäminen	13
2.23 Näytteenottopisteiden fysikaalis- kemiallinen ja biologinen tila	14
2.24 Pintaveden fysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila tutkimusajanjaksona	18
2.25 Jätevesitestit	21
2.3 Tulosten tarkastelu	28
2.31 Koejärjestely	28
2.32 Jätevesitestit	28
2.33 Adaptaatio bakteeritoksisuustesteissä	36
3 ERÄIDEN RASKASMETALLI- JA ORGAANISTEN YHDISTEIDEN VAIKUTUS TAMPEREEN PYHÄJÄRVEN HETEROTROFISTEN BAKTEERIEEN HAJOTUSNOPEU- TEEN	39
3.1 Aineisto ja menetelmät	39
3.11 Näytteenotto	39
3.12 Testattavien yhdisteiden lisäykset hajotusnopeuden määrityksissä	39

3.13	Vesinäytteestä määritetyt muuttujat	39
3.14	Testattavat yhdisteet	39
3.2	Tulokset	40
3.21	Näytteen ottopisteen pintaveden fyysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila	40
3.22	Toksisuustestit	41
3.3	Tulosten tarkastelu	46
4	YHTEENVETO	48
	KIRJALLISUUS	50
	LIITTEET: Kartta 1 ja 2	

1 JOHDANTO

Vesiekosysteemi koostuu sekä abioottisista että bioottisista komponenteista, joihin molempiin vaikuttavat ulkoiset säätäjät kuten tuuli, lämpötila, säteily jne. Bioottiset komponentit voidaan jakaa perustuottajiin, (esim. kasviplankton, epifyytit, makrofyytit), 1. asteen kuluttajiin (esim. kalat) ja hajottajiin (esim. bakteerit, sienet ja alkueläimet). Abioottisia tekijöitä ovat tavalliset epäorgaaniset ja orgaaniset yhdisteet kuten vesi, mineraalit ja kuollut orgaaninen aine. Toimiva ekosysteemi muodostuu bioottisten ja abioottisten komponenttien vuorovaikutuksesta.

Luonnollisessa ympäristössä toimivan ekosysteemin tasapainotilaa voidaan häiritä erilaisilla kuormitustekijöillä (kuva 1).



Kuva 1. Ekosysteemin ja kuormituksen välinen vuorovaikutus

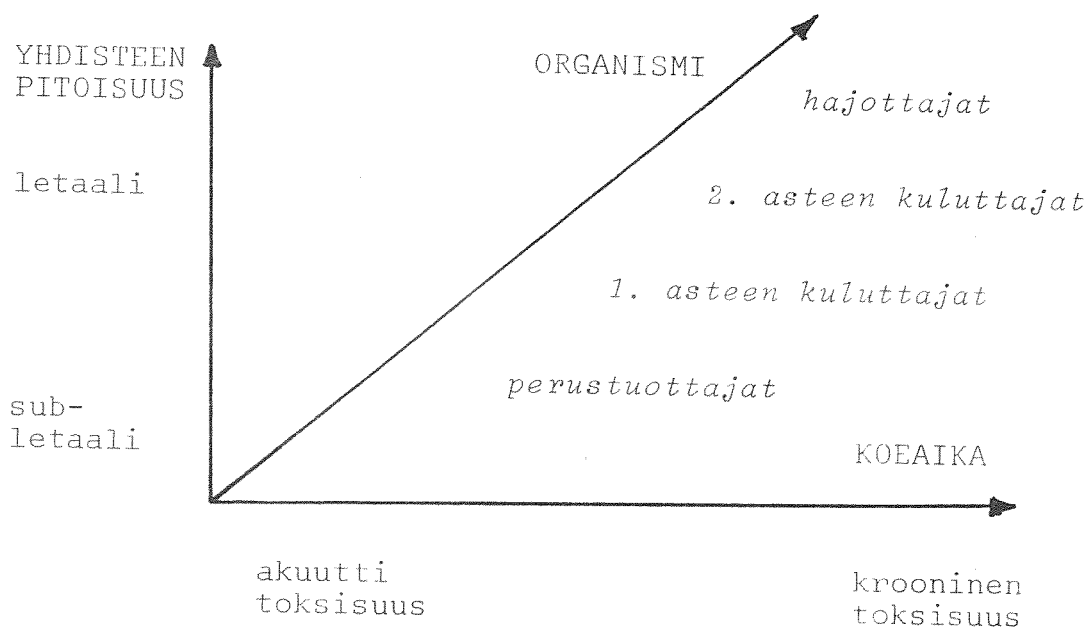
Kuormituksen vaikutus vesiekosysteemin tasapainotilaan riippuu useista tekijöistä. Erilaisten organismien herkkyys eri kuormitustekijöille on merkityksellistä, mutta myös kuormittajien pitoisuudet, niiden pysyvyys tai kertyvyys ekosysteemin eri tasoille ja kuormituksen kokonaiskesto määräävät suurelta osin lopullisen vaikutuksen. Etenkin pitkälle teollistuneissa maissa, joissa jätteitä johdetaan runsaasti vesistöön tai jätteitä vastaanottava vesimäärä on vähäinen on kehitetty erilaisia testejä jätevesien vesistövaikutusten selville saamiseksi.

1.1 TOKSISUUS-TOKSISUUSTESTIT

Jokin tietty jätevedessä oleva yhdiste tai alkuaine voi toimia toksisena eli organismiin jo pienenä pitoisuutena haitallisesti vaikuttavana aineena. Vaikka toksiinikäsité on sidoksissa

alkuaineeseen tai kemialliseen yhdisteeseen ei aineen toksisuutta voi täysin irroittaa organismin fysiologisesta ympäristöstä kuten edellä on todettu. Toksiinin määritelmän mukaisesti esim. lämpö ja radioaktiivinen säteily eivät kuulu toksineihin. Toksisuuden ja toksiinin sijasta olisi ehkä mielekkäämpää käyttää inhibitio-inhibiittori käsitettä ja tarkastella organismien reaktioita inhibitio-stimulaatio käsitteen avulla. Tällöin olisi kyse toksisuutta laajemmasta tapahtumasta.

Tietyn aineen toksisuus määritetään yleensä eri organismeilla tai organismiryhmillä suoritettavilla toksisuustesteillä. Koejärjestelystä ja osittain myös koeorganismista riippuen pyritään testaamaan aineen akuuttia tai kroonista toksisuutta aineen eri pitoisuuksissa (letaali - subletaalivaikutus) (kuva 2).



Kuva 2. Koejärjestelyn ulottuvuudet toksisuustesteissä

Pohjoismaista toksisuustestien standardisointia hoitaa NORD-FORSK projektillaan "Ekotoksikologiska metoder för akvatisk miljö". Projekti on jaettu neljään osaprojektiin:

1. Menetelmät, joissa käytetään kaloja ja selkärangattomia testiorganismina.
2. Menetelmät, joissa käytetään mikro-organismeja testiorganismineina.
3. Menetelmät bioakkumulaation tutkimiseen.
4. Teollisuusjätevesien karakterisointitutkimukset.

Osaprojektia 1. johtaa Helsingin yliopiston eläintieteellisen laitoksen dosentti Antti Sovio. Osaprojekti 2. johto on Tanskalla, 3. Norjalla ja 4. johto Ruotsilla. Projektin työskentely aloitettiin 1.1.1979 ja sen on määrä jatkua 3 vuotta.

1.11 K a l a t j a e l ä i n p l a n k t o n

Valtaosassa eri puolilla maailmaa tehdyissä toksisuustesteissä on koeorganismina käytetty kalaa, koska kaloihin kohdistuva haitta on välitön. Useiden maiden kohdalla kalalla on huomattava kansantaloudellinen merkitys. Kalatestit ovat olleet viime vuosina voimakkaan kehityksen kohteena. Kirjallisuuden perusteella yleisin kalatesti on LC 50-arvon (aineen pitoisuus, jossa puolet koeorganismeista kuolee koeajan kuluessa) määrittämiseen perustuva testaus. Suomen kielellä julkaistusta kalatesteihin liittyvästä aineistosta mainittakoon Oikarin ym. (1979), Oikarin (1979), Soivion ym. (1979) ja Soverin (1979) työt.

Eläinplanktonia on myös käytetty toksisuustestien koeorganismina vaikkakin huomattavasti kaloja vähäisemmässä määrin. Eläinplanktonin käytöllä saavutetaan useita etuja kalatoksisuustesteihin verrattuna. Eläinplanktonin pieni koko antaa mahdollisuuden koeolosuhteiden järjestelyyn pienessä mittakaavassa ja suuren yksilömäärän hyväksikäyttöön. Eläinplankton lisääntyy suotuisissa olosuhteissa partenogeneettisesti, jolloin on mahdollista tuottaa geneettisesti samankaltaisia yksilöitä. Epäsuotuisissa oloissa lisääntymistapaa voidaan pitää toksisuuden osoittajana (Dave 1978). Kalat käyttävät eläinplanktonia ravintonaan, joten eläinplanktoniin mahdollisesti kertyvillä myrkyillä on vaikutusta kalatalouteen. Tavanomaisessa eläinplanktonkokeessa seurataan huoneenlämmössä viiden yksilön myrkkysietoa 0 - 48 tunnin koeaikana (Schmaltz 1979, Lee ja Buikema 1979).

Vesieläimillä tehdyistä toksisuustesteistä on Dave (1978) tehnyt mittavan kirjallisuuskatsauksen, johon sisältyy kaikkiaan 1 611 kirjallisuusviitettä.

1.12 K a s v i p l a n k t o n

Yhteyttävät levät ovat pääasiassa vastuussa vesistöjen perustuotannosta. Sitoessaan säteilyenergiaa ja tuottaessaan samalla happea levät muodostavat vesiekologisen perustason, jonka varaan useimmat muut veden biologiset toiminnot rakentuvat. Täten yhteyttäviin leviin kohdistuvalla ympäristön paineella on välitön vaikutus useisiin vesiluonnon toimintoihin. Levät ovatkin saavuttamassa yhä vankemman jalansijan toksisuustestien koeorganismeina. Leviin kohdistuvia erilaisia myrkkyyvaikutuksia on tutkittu paljon myös Suomessa, etenkin puunjalostusteollisuuden jätevesien vaikutuksia (Eloranta ja Eloranta 1974, 1976 a, b, 1978, Lahti 1980). Kansainvälistä levätestitutkimusta kuvaa mm. Blanck'in (1978) kirjallisuuskatsaus, johon sisältyy 439 kirjallisuusviitettä. Levätesteissä käytettyjen erilaisten testisysteemien suhteellista osuutta kuvaa taulukko 1.

Taulukko 1. Eri testisysteemejä käyttävien tutkimusten lukumäärä (Blanck ym. 1978)

Testisysteemi	Tutkimusten lukumäärä
A. Luonnon ekosysteemi	17
B. Luonnon populaatiot tai yksilöt luonnossa	12
C. Ekosysteemikokeet (kontrolloitu ekosysteemin kuormitus-koe)	16
D. Mikrokosmos	35
E. Luonnosta eristetyt leväyhteisöt laboratoriossa	20
F. Keinotekoiset leväyhteisöt viljelmänä	5
G. Yksi organismi laboratorioviljelmänä	236
H. Ei-solulliset kokeet	11

Pohjoismaissa käytettäviä levätoksisuustestejä on kuvattu Nordforskin (1978) kokoomajulkaisussa.

.13 B a k t e e r i t

Hajottajat samoin kuin yhteyttävät levät muodostavat erään tärkeän ekologisen perustason. Useimmissa vesiekosysteemeissä hajottajista tärkeimpiä ovat heterotrofiset bakteerit, jotka hajottaessaan orgaanista ainetta vapauttavat ylemmille trofiatasoille elintärkeitä ravinteita ja mineraaleja. Valtavasta lajimäärästä johtuen heterotrofiset bakteerit pystyvät hajottamaan lähes kaikkia luonnossa esiintyviä ja ihmisen tuottamia orgaanisia yhdisteitä. Sen lisäksi että heterotrofiset bakteerit hajottavat erilaisia ihmisen veteen johtamia aineita ne toimivat tärkeänä linkkinä luonnon energia- ja ravintotaloudessa.

Toksiset yhdisteet saattavat häiritä tärkeitä bakteerien biokemiallisia prosesseja, esim. typen rikin ja fosforin hapetus-pelkistysreaktioita, jolloin ekologisesti tärkeiden alkuaineiden kiertokulku häiriintyy. Toksiinit voivat myös kokonaan tuhota hajottajaorganismit, jolloin orgaanista ainetta kasautuu ekosysteemiin ja systeemin energiavirta häiriintyy.

Veden happitalouden kannalta hajottajaorganismien normaali toiminta on merkittävää etenkin alueilla, joissa jääpeite estää hapen liukenemisen veteen pitkänä ajanjaksona. Mikäli hajotustoiminta on vapaan veden aikana estynyt tai orgaanisen aineen kuormitus on ylimitoitettua, kertyy vesistön pohjalle helposti hajoavia yhdisteitä. Pitkään kestävä jääpeitteen aikana heikkokin hajotustoiminta pystyy kuluttamaan veden happivarat loppuun, mistä välittömänä seurauksena on kala-kuolema.

Bakteerien käyttö toksisuustestien testiorganismina on ollut vähäisempää kuin kalojen ja eläin- tai kasviplanktonin hyväksikäyttö. Bakteritesteissä käytetyt koejärjestelyt vaihtelevat puhdasviljelmistä ekosysteemikokeisiin (Gustafsson 1978). Eniten bakteritoksisuustestejä on käytetty aktiivilietelaitosten toimintaan vaikuttavien aineiden tutkimiseen.

Bakterikokeissa mitattavina muuttujina voidaan tarpeen mukaan käyttää kasvua, hengitystä, substraatin ottonopeutta, dehydrogenaasiaktiviteettia, yhdisteiden kertymistä organismiin (organismeihin), kemotaksista tai predaatiota (Gustafsson 1978). Lisäksi voidaan tutkia toksiinin aiheuttamia geneettisiä muutoksia testiorganismissa (Ames ym. 1973, Ramel 1978), organismiyhteisön muutoksia (Singleton ja Guthrie 1977), liikettä (Chet ja Mitchell 1976), nitrifikaatiota (Stensel ym. 1976) jne.

Eräs merkittävä haitta bakteritoksisuustesteissä on bakteerien kyky sopeutua nopeasti ympäristössä vallitseviin olosuhteisiin. Sopeutuminen saattaa olla fysiologista (Varma ym. 1976), jolloin bakteerit muuttavat entsyymitoimintansa uuteen ympäristöön sopivaksi. Sopeutuminen voi olla myös geneettistä bakteerien lyhyen generaatioajan ansiosta (Varma ym. 1976). Geneettisen muuntelun tuloksena syntyy bakterikantoja, jotka pystyvät menestyksellisesti kilpailemaan ja toimimaan muuttuneessa ympäristössä. Yleensä voimakas kuormitus johtaa ekosysteemin yksinkertaistumiseen siten, että luonnontilassa useita eri bakteerilajeista koostuvassa yhteisössä kilpailuolosuhteiden muuttuessa pääsee jokin tietty bakteerilaji hallitsemaan (Remsen ym. 1974, Baleux 1977, Singleton ja Guthrie 1977). Sopeutumisilmiöstä johtuen useimmissa bakterikokeissa on tyydytty vain akuutin toksisuuden toteamiseen (Mentzel 1977). Bakteritoksisuustestejä on esitelty Gustafssonin (1978) ja Nordforskin (1978) kirjallisuuskatsauksissa.

1.2 EKOLOGINEN RELEVANSSI

Ekologinen relevanssi (reaalisuus) on toksisuustestien kannalta erittäin merkittävää. Testisysteemiä, joka koostuu luonnon ekosysteemin päätekijöistä ja sallii näiden tekijöiden vuorovaikutuksen samoin tavoin kuin luonnossa, voidaan pitää ekologisesti realistisena. Valtaosa toksisuustesteistä koostuu erilaisista laboratorio-olosuhteissa järjestetyistä testeistä, joissa testiorganismina on tietyn (tiettyjen) organismitason (organismitasojen) tyypillinen (tyypilliset) edustaja (-t). Siirryttäessä monimutkaisesta luontoa jäljittelevästä testisysteemistä yksinkertaisiin puhdasviljelmillä suoritettaviin testeihin, vähenee ekologinen relevanssi, mutta samalla tulosten tulkittavuus helpottuu. Mikäli halutaan tietoa ekosysteemin reaktioista kuormitukseen, tulisi testaus suorittaa ekologisesti relevanteissa olosuhteissa. Kuitenkaan kaikissa testitilanteissa ei aina ole mielekästä pyrkiä täydelliseen ekologiseen relevanssiin. Puhdasviljelmillä suoritettavat yksinkertaiset ja nopeat testit sopivat erinomaisesti seulonta (screening) -testeiksi, joiden avulla saatujen tulosten perusteella ryhdytään syventäviin tutkimuksiin. Esimerkiksi viime aikaisissa syöpätutkimuksissa on bakteripuhdasviljelmiä käy-

tetty menestyksellisesti hyväksi. Erilaisten bakteereilla mutaatiota aiheuttavien yhdisteiden on myöhemmin todettu aiheuttaneen syöpää nisäkkäillä (Ramel 1978).

1.3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA KOEJÄRJESTELY

Tutkimus koostui kahdesta osatutkimuksesta, joissa molemmissa seurattiin heterotrofisten bakteerien (luonnonpopulaatiot) reaktioita jätevesi- tai ainelisäyksiin.

Mäntän ylä- ja alapuolisessa vesistössä tutkittiin integroidun paperi- ja sulfiittiselluloosatehtaan (G.A. Serlachius Oy) jätevesien ja Tampereen Pyhäjärvestä eräiden raskasmetalli- ja orgaanisten yhdisteiden vaikutusta heterotrofisten bakteerien toimintaan.

Heterotrofiset bakteerit valittiin koeorganismeiksi, koska haluttiin selvittää erilaisten kuormitustekijöiden (selluloosajäte, raskasmetalli- ja orgaaniset yhdisteet) vaikutus vesistön hajotustoimintaan. Orgaanisen aineen hajotuksella eli hiiliainenvaihdunnalla on välitön yhteys vesistön happitalouteen, sillä orgaanisen aineen hajotuksessa kuluu hapeta.

Koejärjestelyssä pyrittiin mahdollisimman hyvään ekologiseen luotettavuuteen, koska haluttiin seurata hajottajien reaktioita ekosysteemitasolla yksittäisten bakteerien reaktioita erittelemättä. Vesinäytteet haettiin kuormitusta vastaanottavasta vesistöstä. Mäntän alapuolisesta vesistöstä noudettuihin näytteisiin lisättiin 0,001 - 10 % Mäntänlahden vettä (kartta 1). Tutkimuksessa tehdyt jätevesilisäykset vastasivat jäteveden kuormitusta alapuolisen vesistön eri osissa (vrt. Eloranta 1972). Pyhäjärvestä noudettuun veteen lisättiin yhdisteitä 0,0001 - 10 ppm pitoisuuksina. Pyhäjärven tutkimuksessa ei ollut saatavilla tietoa yhdisteiden todellisista pitoisuuksista vesistössä, mutta todennäköisesti ne eivät ylitä testeissä käytettyjä maksimipitoisuuksia. Yksityiskohtaiset menetelmäkuvaukset on esitetty kohdissa 2.1 ja 3.1.

2 G.A. SERLACHIUS OY: N JÄTEVESIEN VAIKUTUS HETEROTROFISTEN BAKTEERIEN HAJOTUSNOPEUTEEN

2.1 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.11 Näytteenotto

Vesinäytteet otettiin Mäntän (M) tehtaiden yläpuolelta kokoomänäytteinä 0 - 2 m pisteestä N 44 ja alapuolelta pisteistä V, N 31, N 17 (kartta 1). Näytepullot kuljetettiin alumiinisäiliöissä jäädytettynä Tampereen vesipiirin vesitoimiston laboratorioon, jossa ne säilytettiin yön yli +4-8°C:ssa. Jätevesinäyte otettiin Mäntänlahdelta (ML) 1,0 m syvyydeltä (kartta 1, liitteenä).

2.12 J ä t e v e s i l i s ä y k s e t

Jätevesilisisäyksen vaikutusta heterotrofisten bakteerien hajotusnopeuteen tutkittiin lisäämällä kunkin näytepisteen veteen 0,001 %, 0,01 %, 1,0 % ja 10 % jätevettä. Lisäykset tehtiin siten, että 50 ml:aan vesinäytettä lisättiin 0,5 ml 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} ja 10^{-3} laimennettua steriilisuodatettua (suodattimen huokoskoko 0,45 μ m) jätevettä. Laimennukset 10^0 - 10^{-3} tehtiin kunkin näytepisteen steriilisuodatettuun veteen. 10 %:n jätevesilisisäys tehtiin lisäämällä 50 ml:aan näytettä 5,5 ml laimentamatonta, steriilisuodatettua jätevettä.

Fysikaalis-kemiallisia määriytyksiä varten 500 ml:aan näytepis- teiden vettä lisättiin 0,5, 5,0 ja 55 ml em. jätevettä, jolloin näyteveden jätevesipitoisuudeksi saatiin 0,1 %, 1,0 % ja 10 %.

2.13 V e s i s t ö - j a j ä t e v e s i n ä y t t e i s t ä m ä ä - r i t e t y t m u u t t u j a t

Vesistöstä (V), jätevedestä (J) ja jätevesilaimennoksista (JV) tehtiin seuraavat määriytykset (taulukko 2):

Taulukko 2. Vesistö- (V), jätevesi- (J) ja jätevettä sisältä- vistä näytteistä (JV) tehdyt määriytykset

Muuttuja		Näytteen alkuperä		
		(V)	(J)	(JV)
Hajotusnopeus	(1/T)	+		
Perustuotantokyky	(mgC/m ³ /d)	+		
Klorofylli a	(ug/l)	+		
Happi	(mg/l ja %)	+	+	
Lämpötila	(t ^{OC})	+	+	
Sähkönjohtavuus	(mS/m)	+	+	+
Alkaliniteetti	(mval/l)	+	+	+
pH		+	+	+
Väri	(mgPt/l)	+	+	+
Kok. N	(ug/l)	+	+	
Kok. P	(ug/l)	+	+	
PO ₄ -P	(ug/l)	+		
Liennut orgaani-				
nen hiili (DOC)	(mg/l)	+	+	+
Ligniini	(NaLS)	+	+	+

Orgaanisen aineen hajotusta mitattiin radioaktiivisesti merki- tyn glukoosin avulla. Hajotusta kuvaa glukoosin kiertoajan (T) käänteisarvo (1/T) eli glukoosin kiertonopeus, josta käytetään nimitystä hajotusnopeus.

Hajotusnopeus määritettiin jakamalla kunkin näytepisteen vesi 24:ään 50 ml:n osanäytteeseen 100 ml:n serumpulloihin. Osa- näytteet asetettiin in situ lämpötilaan n. tunniksi (lämpöti- lan tasaamiseksi). Lämpötasattuihin näytteisiin lisättiin jä- tevettä kohdan 2.12 esityksen mukaisesti. Jokaisesta jätevesi-

pitoisuudesta valmistettiin kolme rinnakkaisnäytettä sekä nollanäyte, joihin lisättiin 0,5 ml 39 %:sta formaliinia (pa). Välittömästi jätevesi- ja formaliinilisäysten jälkeen pulloihin lisättiin 200 ul (0,05 ug/l) D-(6-³H) glukoosia (kts. kohta 2.21). Hajotusnopeuden perustason määrittämiseksi kolmeen rinnakkaisnäytteeseen ja nollanäytteeseen (bakteeritoiminta pysäytetty 0,5 ml:lla formaliinia) lisättiin 200 ul radioaktiivista glukoosia.

Lisäysten jälkeen näytteet asetettiin inkuboitumaan in situ lämpötilaan kahdeksi tunniksi (kts. kohta 2.22). Inkubointi päätettiin lisäämällä näytteisiin 0,5 ml 39 %:sta formalii-
nia.

Radioaktiivisuuden määrittystä varten näytteet suodatettiin 0,45 um huokoskoon suodattimelle (Millipore HA). Näytteen pesuun käytettiin 20 + 10 ml tislattua vettä. Pestyt suodattimet asetettiin 20 ml:n lasisiin nestetuikepulloihin (Wallac), joissa ne kuljetettiin Helsingin yliopiston maatalous-metsätieteellisen tiedekunnan isotooppiosastolle mitattavaksi. Bakteerisoluihin sitoutunut radioaktiivisuus mitattiin vesi-dioksaani-PCS-tuikejärjestelmällä (kts. Kuparinen 1980), jolla määritettiin myös glukoosiliuoksen absoluuttisen aktiivisuus.

Glukoosin kiertoaika (T) laskettiin kaavalla (1):

$$(1) \quad T = \frac{C}{c} \cdot t, \text{ jossa}$$

C = näytteeseen lisätty radioaktiivisuus, DPM

c = näytteestä mitattu radioaktiivisuus, DPM

t = inkubointiaika

Perustuotantokykymäärittysten inkubointi, epäorgaanisen hiilen määrittäminen ja tuotantokyvyn lasku tehtiin SFS-3049 standardin mukaisesti. Soluihin sitoutunut radioaktiivisuus mitattiin vesi-dioksaani-PCS-tuikejärjestelmällä. Absoluuttinen ¹⁴C-aktiivisuus mitattiin vesi-etanolamiini-etanoli-PPO-POPOP-tolueeni-tuikejärjestelmällä (kts. Kuparinen 1980).

Liuennot orgaaninen hiili määritettiin Salosen (1979) kehittämällä menetelmällä Lammin biologisella asemalla.

Klorofylli a ja fysikaalis-kemialliset määritykset tehtiin Tampereen vesipiirin vesitoimiston laboratoriossa käyttäen SFS-standardimenetelmiä.

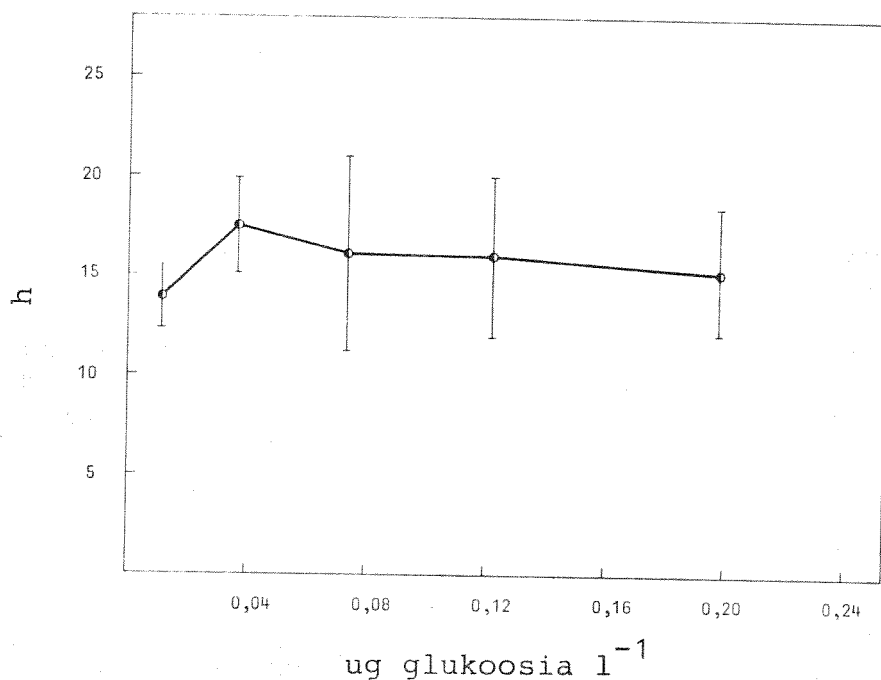
2.2 TULOKSET

2.21 Näytteen lisätyn glukoosipitoisuuden tason määrittäminen

Glukoosin kiertoaika määritettiin yhdellä glukoosilisäyksellä luonnontaso-periaatteen mukaisesti (Williams ja Askew 1968, Azam ja Holm-Hansen 1973, Tamminen 1980).

Mikäli luonnonveden glukoosipitoisuus on luokkaa muutama mik-

rogramma litrassa (Williams ja Askew 1968, Gocke 1977) saavutetaan luonnontaso-periaatteen mukainen määrittely muutamalla kymmennysosamikrogramma lisäyksellä (Wright 1978). Pienten substraattilisäysten käytöllä saavutetaan toksisuustesteissä se etu, että näytteeseen tehdyllä substraattilisäyksellä ei häiritä bakteeritoimintaa. Lisättäessä näytteeseen glukoosia pitoisuusrajoissa 0,01 - 0,2 ug/l, ei kiertoaajoissa havaittu merkittävää vaihtelua (kuva 3) eli glukoosin lisäyksellä ei vaikuttanut näytteessä olevan bakteeripopulaation luonnolliseen hajotustoimintaan. Jäteveden vaikutusta testattaessa käytettiin 0,05 ug/l glukoosilisäystä. Kuvan 3 perusteella ko. glukoosilisäys ei stimuloi tai inhiboi bakteeritoimintaa, mikä on edellytys toksisuustestien suorittamiselle.

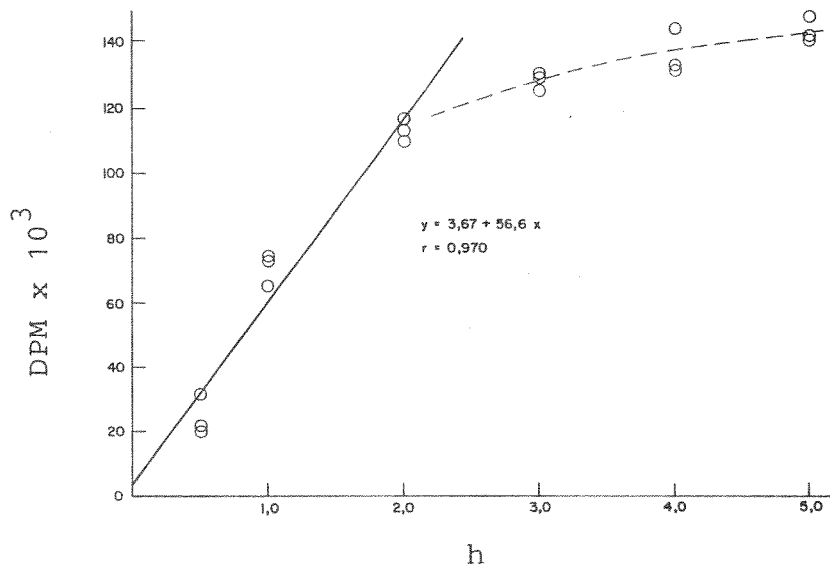


Kuva 3. Glukoosipitoisuuden vaikutus kiertoaikaan

2.22 Hajotusnopeuden mittaamisessa käytetyn inkubointiajan määrittäminen

Hajotusnopeuden mittaaminen radioaktiivisilla substraateilla edellyttää, että inkuboinnin aikana substraatin otto on vakio (Wright ja Hobbie 1966). Inkubointiaika on siis valittava sellaiselta alueelta, jossa inkubointiajan ja organismin ottaman radioaktiivisuuden välillä vallitsee lineaarinen suhde.

Tehdyssä kokeessa todettiin lineaarisuuden vallitsevan vain hyvin lyhyillä inkubointiajoilla (kuva 4). Yli kahden tunnin inkuboinneilla substraatin otto alkoi hidastua merkittävästi. Inkubointikäyrän taipuminen kahden tunnin ylittävillä inkubointiajoilla johtuu radioaktiivisesti merkityn substraatin vähenemisestä näytteessä. Kolmen tunnin inkuboinnin aikana bakteerit ehtivät ottaa 37,6 % näytteeseen lisätystä substraatista, mikä ylittää runsaasti merkkiainekokeille yleensä asetetun 5 %:n rajan (Wright ja Hobbie 1966).



Kuva 4. Inkubointiajan ja bakteerisoluihin kertyneen radioaktiivisuuden välinen suhde

Toksisuustesteissä jäteveden annettiin vaikuttaa bakteeritoimintaan ainoastaan inkubointiajan verran, minkä johdosta inkubointiaika haluttiin pitää mahdollisimman pitkänä (yleensä 2 h).

2.23 Näytteenottopisteiden fysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila

Eräiden biologisten ja fysikaalis-kemiallisten muuttujien vertikaalijakaumaa tutkittiin 11.6.1979 Mäntän ylä- ja alapuolisessa vesistössä ottamalla näytteitä pinnasta, yhden, kolmen ja viiden metrin syvyydeltä sekä yhden metrin päästä pohjan pintaa. Mittaustulokset on esitetty taulukossa 3.

Taulukosta voidaan todeta Mäntän ylä- ja alapuolisten altaiden lämpötilakerrostuneisuus sekä pintaveden tasalämpöisyys 5,0 m:iin.

Mäntän yläpuolisessa pisteessä (N 44) päällysvesi on yli 95 %:sti hapen kyllästämä ja alusvedessäkin on hyvä happitilanne. Päällysveden perustuotantokykyarvot osoittavat jäänteitä kevätmaksimista. Pohjan lähellä on kokonaistyyppipitoisuus päällysvettä selvästi korkeampi, mutta fosforipitoisuudet ovat sekä päälly- että alusvedessä alhaiset. Ligniinin alhaiset pitoisuudet ja tasainen jakautuminen koko vesimassassa kuvastaa veden hyvää tilaa.

Sekä päällysveden että pohjan läheiset pienet hajotusnopeudet osoittavat helposti hajoavien yhdisteiden puuttumisen vesimassasta. Hieman kohonnut hajotusnopeus 3,0 ja 5,0 metrisä osoittaa hajoamiskelpoisen materian kasaantumisen päällysveden alaosaan, harppauskerroksen yläpuolelle. Lämpötilakerrostuneisuuden rajan voidaan olettaa sijaitsevan hieman

5,0 m:n alapuolella. Keuruselän eteläpuolta voidaan pitää lähes luonnontilaisena humusvetenä (Vesihallitus 1978).

Taulukko 3. Eräiden fysikaalis-kemiallisten ja biologisten muuttujien vertikaalijakaumat 11.6.1979, p = pohja

Piste	Muuttuja												
	Syvyys (m)	Lämpötila (°C)	Happi kyll. %	Sähkönjohtavuus (mS m ⁻¹)	pH	Alkaliniteetti (mval l ⁻¹)	Kok. N (ug l ⁻¹)	Kok. P (ug l ⁻¹)	PO ₄ -P (ug l ⁻¹)	Ligniini (mg l ⁻¹)	Klorofylli a (ug l ⁻¹)	Perustuotantokyky (netto) (mg C m ⁻³ d ⁻¹)	Hajotusnopeus (h ⁻¹)
N 44	0,1	16,3	95	4,2	6,7	0,10	420	10	3	1,0	5,7	92	0,007
	1	16,3	95	4,2	6,7	0,10				1,0		94	0,006
	3	16,3	96	4,4	6,7	0,10				1,0		100	0,010
	5	16,3	94	4,6	6,7	0,10	490	13	3	1,0		76	0,011
	9,3	9,5	66	4,3	6,2	0,09	620	14	5	1,0		28	0,009
	p = 10,3												
V	0,1	14,0	17	7,5	5,2	0,01	610	27	3	19,0	5,5	7,5	0,018
	p = 0,5												
N 31	0,1	16,2	44	8,5	4,9		610	35	5	13,0	14	58	0,150
	1	16,2	45	8,0	4,9					13,0		60	0,120
	3	16,2	45	8,6	4,9					14,0		66	0,200
	5	16,0	45	8,5	5,0		600	36	4	13,0		49	0,230
	20	8,1	0	8,4	4,9		760	60	11	16,0		2,8	0,180
	p = 21												
N 17	0,1	14,5	79	6,4	5,6	0,03	540	19	4	8,0	5,5	79	0,089
	1	14,5	79	6,4	5,6	0,02				8,0		51	0,074
	3	14,4	79	6,4	5,6	0,02				8,0		50	0,112
	5	14,4	79	6,4	5,6	0,02	530	18	4	8,0		45	0,109
	39	6,9	53	6,4	5,4	0,03	570	23	5	7,0		10	0,018
	p = 40												

Vilppulankoskessa (V) voidaan havaita voimakkaan kuormituksen aiheuttama vesistön tilan muutos sekä biologisilla että fysikaalis-kemiallisilla muuttujilla. Veden happipitoisuus on nolla-tasolla, sähkönjohtavuus ja fosforipitoisuudet ovat kohonneet lähes kaksinkertaiseksi yläpuoliseen vesistöön ver-

rattuna ja pH laskenut noin yksikön verran. Parhaiten kuormituksen vaikutus näkyy lähes 20-kertaiseksi kohonneessa ligniinipitoisuudessa.

Perustuotantokyky on jätevesien vaikutuksesta inhiboitunut. Klorofylli a:n pitoisuus on samaa suuruusluokkaa kuin Mäntän yläpuolisella pisteellä. Koska perustuotantokyky on selvästi inhiboitunut, Vilppulankoskessa ei levämassaa ole voitu tuottaa tehtaan alapuolisissa altaissa, joissa inhiboiva vaikutus on voimakkaimmillaan, joten korkea klorofylli a-pitoisuus johtunee levämassasta, joka on kulkeutunut Vilppulankoskeen Mäntän yläpuolisesta vesistöstä tai Kuorevedeltä. Hajotusnopeus on Vilppulankoskessa yläpuolista vesistöä suurempi, joten jätevesien mukana vesistöön johdetaan myös hajotuskelpoisia orgaanisia yhdisteitä.

Pisteessä N 31 ovat kuormituksen vaikutukset selvästi nähtävissä useiden muuttujien arvoissa. Happitilanne on heikko sekä päällysvettä alusvedessä, jossa se on pohjan lähellä pudonnut nolllaan. Kohonneet ravinne- ja ligniinipitoisuudet pohjan lähellä osoittavat jätevesien mukana kulkeutuvien aineiden kerääntyvän syvänteisiin.

Yläpuoliseen vesistöön verrattuna pisteen N 31 perustuotantokyky on pienempi, mikä johtuu jäteveden tuotantoa inhiboivasta vaikutuksesta. Inhibitiosta on osoituksena näytepisteen pintaveden korkea klorofylli a-pitoisuus (kuva 5) vaikka tuotantokyky on alhainen (kuva 6). Eloranta (1976 b) on todennut puhdasviljelmäkokeissaan inhibitiovaikutuksen näkyvän selvästi aikaisemmin perustuotantokykyarvoissa kuin klorofylli a-pitoisuuksissa. Inhibition aiheuttaja on pisteellä N 31 ollut jokin haihtumaton yhdiste (Stockner ja Costella 1976), sillä jätevedet ovat tälle pisteelle kulkeutuessaan ehtineet ilmastua hyvin.

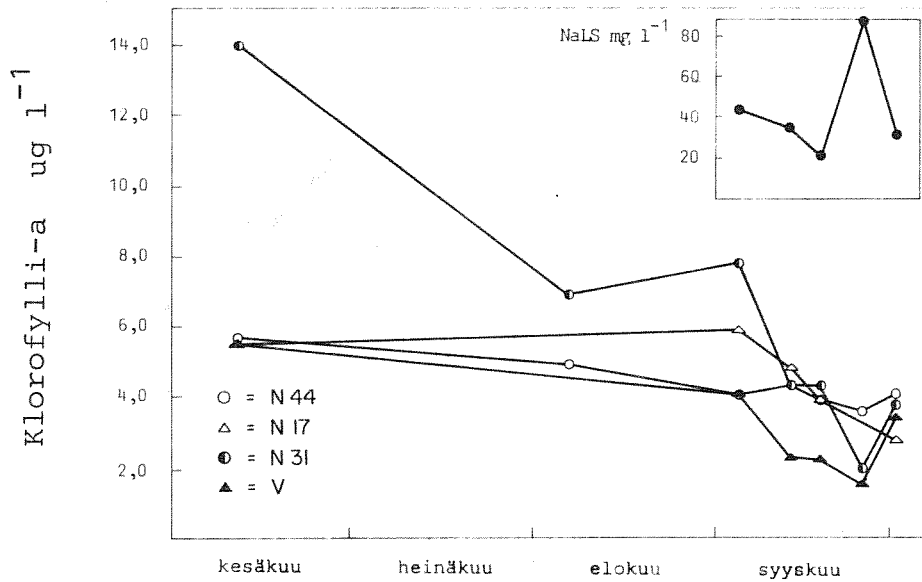
Aikaisempien tutkimusten perusteella Mustaselän (N 31) alue on ollut rehevöitymisaluetta (Vesihallitus 1978). Jätevesien rehevöittävä vaikutus näkyy pintaveden perustuotantokykyarvoissa (kuva 6) kuitenkin vasta syksyllä.

Näytepisteen huonolle happitilanteelle löytyy selitys hajotusnopeuksista, jotka osoittavat erittäin vilkasta hajotustoimintaa koko vesimassassa ja varsinkin harppauskerroksen yläpuolella, jossa hajotusnopeuteen vaikuttaa sekä jätevedet että kuoleva kasviplanktonaines.

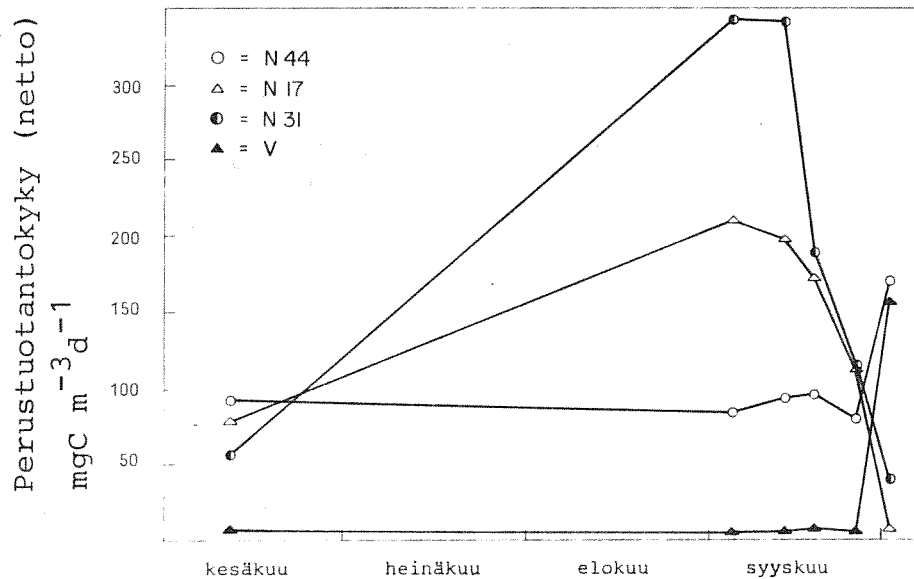
Kautun kanavan lähistöllä (N 17) on havaittavissa Tarjanneveden jätevesiä laimentava vaikutus, mikä ilmenee koko vesifaasin happipitoisuuden ja pH:n nousuna sekä ligniini ja ravinnepitoisuuksien laskuna.

Päällysveden perustuotantokyvyn taso on hieman laskenut ja hajotusnopeus hidastunut. Hajotusnopeudessa on edelleen nähtävissä kolmen ja viiden metrin syvyydellä kohonneet arvot, mikä johtunee laskeutuvasta, hajoamiskelpoisesta kasviplanktonista. Hajotusnopeuden pienuuteen pohjan lähellä vaikuttaa ilmeisesti alhainen lämpötila.

Ligniinipitoisuudet ovat pisteellä N 17 edelleen selvästi yläpuolista vesistöä (N 44) korkeammalla tasolla, mikä osoittaa jätevesien kulkeutuvan tälle pisteelle.



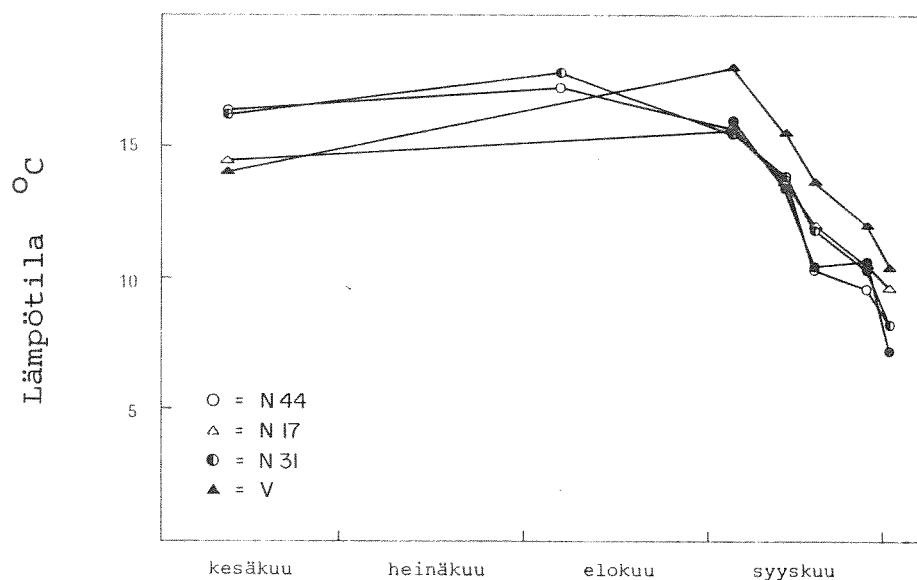
Kuva 5. Klorofylli a-pitoisuudet Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) kesällä 1979. Oikeassa yläalaidassa oleva erillinen kuva esittää Mäntänlahden (ML) NaLS-pitoisuuksia syys-lokakuussa



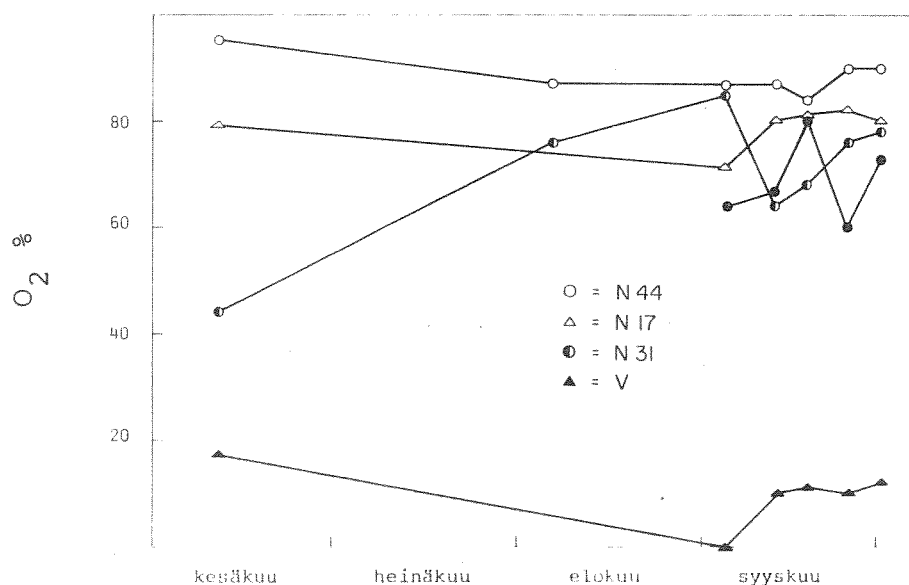
Kuva 6. Perustuotantokykyarvot (netto) Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) kesällä 1979

2.24 Pintaveden fysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila tutkimusajanjaksona

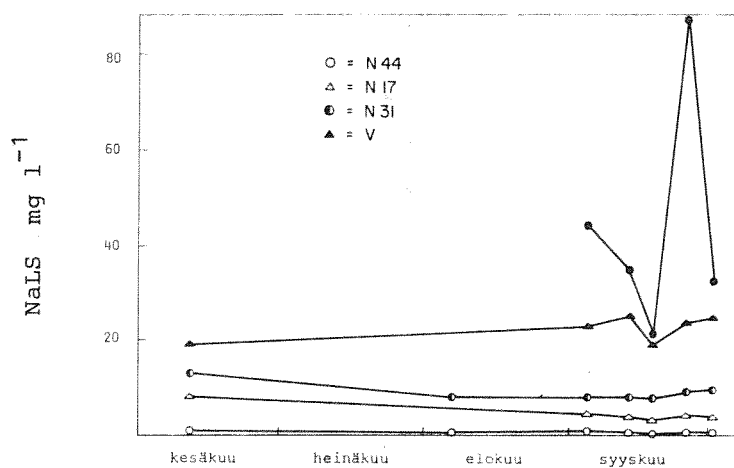
Pintaveden (0-2 m) fysikaalis-kemiallinen tila on esitetty kuvina (7 - 14).



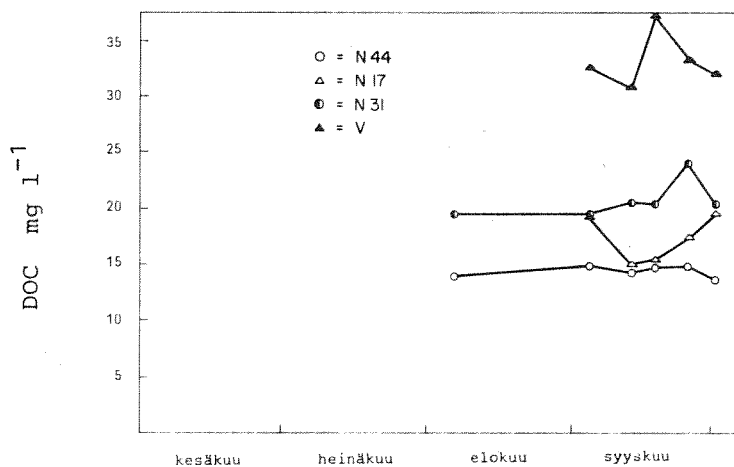
Kuva 7. Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisen (V, N 31 ja N 17) vesistön veden (0-2 m) lämpötila keuhällä 1979



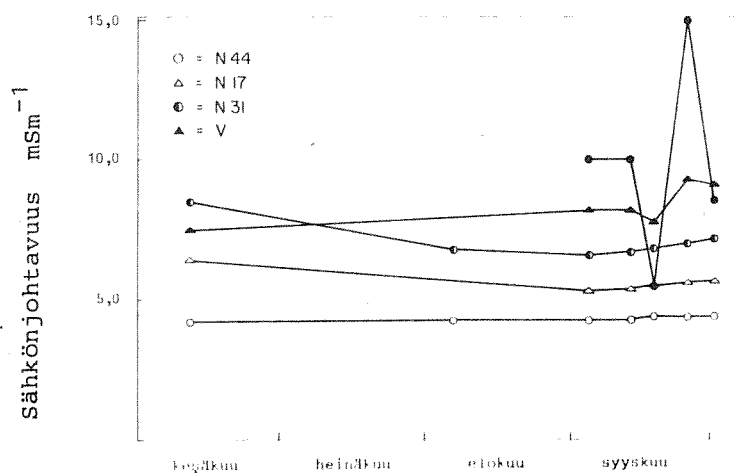
Kuva 8. Hapen kyllästysaste Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahden (ML = suljetut ympyrät) keuhällä 1979



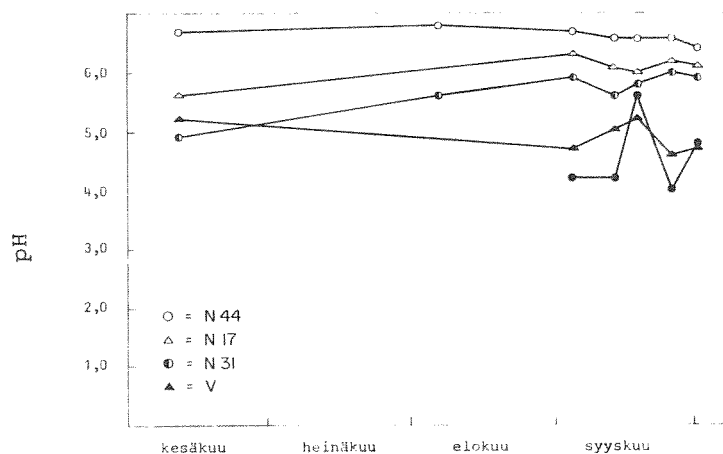
Kuva 9. NaLS-pitoisuudet Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahdella (ML = suljetut ympyrät) kesällä 1979



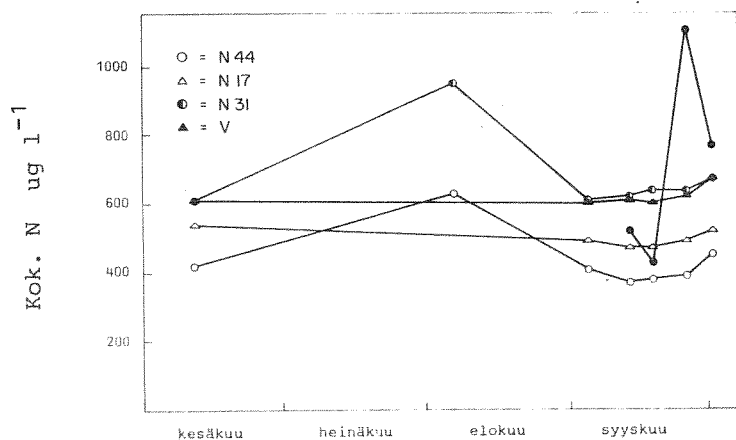
Kuva 10. Liuenneen orgaanisen hiilen pitoisuudet Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) kesällä 1979



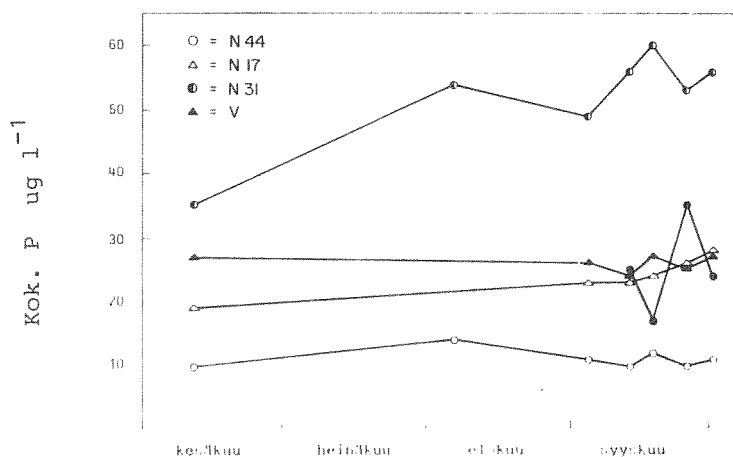
Kuva 11. Sähkönjohtavuus Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahdella (ML = suljetut ympyrät) kesällä 1979



Kuva 12. Veden happamuus Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahdella (ML = suljetut ympyrät) kesällä 1979



Kuva 13. Kokonaistyyppipitoisuudet Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahdella (ML = suljetut ympyrät) kesällä 1979



Kuva 14. Kokonaisfosforipitoisuudet Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisessa (V, N 31 ja N 17) vesistössä (0-2 m) sekä Mäntänlahdella (ML = suljetut ympyrät) kesällä 1979

Jätevesikuormitusta parhaiten ilmentävät muuttujat ovat ligniini (kuva 9), liuennut orgaaninen hiili (kuva 10), sähköjohtavuus (kuva 11) ja pH (kuva 12), jotka kaikki erottelevat näytepisteet toisistaan. Ravinnekuvaajista (kuva 13 ja 14) voidaan todeta näytepisteessä N 31 vallinneen korkea ravintaso tutkimusaikana. Jätevesikuormituksessa tapahtunut vaihtelu havaitaan Vilppulankosken tuloksissa (suljettu kolmio). Kauempana olevissa pisteissä N 31 ja N 17 ei lyhytaikaisia kuormituksen vaihteluita enää havaita, sillä alapuoliset altaat tasaavat kuormituksen vaihtelun. Lyhytaikaisen kuormituksen vaihtelun näkymättömyyteen vaikuttaa myös se, että näytteitä ei otettu viiveellisenä.

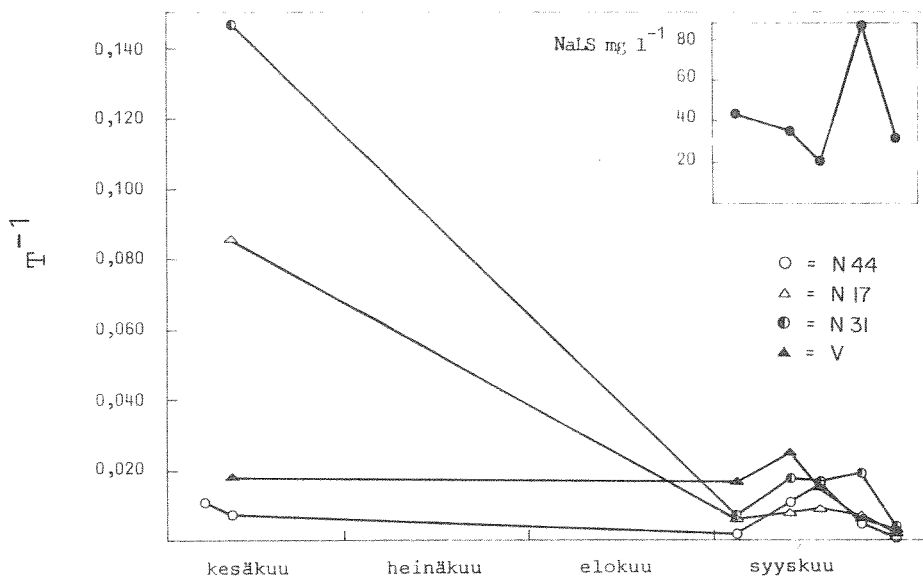
Pintaveden tuotanto- ja hajotustulokset on esitetty kuvissa 5, 6 ja 15. Perustuotantokäy- ja klorofyllikuvaajia vertaamalla voidaan todeta kesäkuun näytteenottokerralla perustuotantokäyvyn inhiboituminen pisteellä N 31. Näytepisteiden N 31 ja N 17 perustuotantokäyvyn syysmaksimi on ollut huipussaan syyskuun alussa (kuva 6), mutta Mäntän yläpuolisessa pisteessä vasta alullaan syyskuun loppupuolella. Vilppulankosken suhteellisen korkea perustuotantokäy- ja klorofylli a-arvot lokakuun alussa johtuvat ilmeisesti siitä, että Mäntän alapuolelta ja Kuorevedeltä kulkeutuu voimakkaan virtaaman mukana leviää, jotka eivät täysin ehdi inhiboitua Vilppulankoskeen saavuttuaan. Lokakuun näytteenottokerralla jätevesikuormitus oli pieni, mikä tukee em. oletusta.

Hajotusnopeudessa (kuva 15) näkyy kesäkuussa näytepisteiden välinen ero selvästi, mutta erot pienenevät syksyllä. Ainoastaan pisteen N 31 hajotusnopeudet ovat muita pisteitä korkeammat. Hajotusnopeuden tason laskuun on syynä todennäköisesti lämpötilan aleneminen (kuva 7).

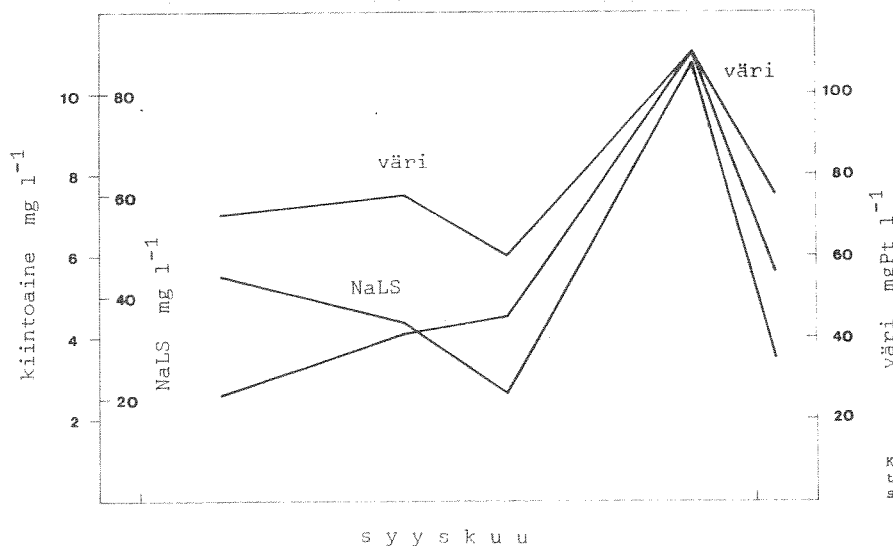
2.25 J ä t e v e s i t e s t i t

Jätevesilisisäyksen vaikutusta näytepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 hajotusnopeuteen tutkittiin viitenä eri ajankohtana syyslokakuun aikana. Testejä varten näytepisteiltä otettiin pintavedestä kokoomanäyte (0-2 m). Kokoomanäytteen ositus, jätevesilisisäykset ja radioaktiivisen substraatin lisäys on esitetty kohdassa 2.13. Testeissä käytetyn jäteveden laatu ja väkevyys vaihteli eri testikerroilla (kuva 16). Jäteveden laadun vaihtelulla ei ollut merkitystä testeissä, sillä eri testikerroja ei pyritty vertailemaan keskenään vaan vertailu tapahtui eri näytepisteiden välillä, kullakin testikerralla erikseen. Jätevesitesteissä saadut tulokset on esitetty kuvina 17 - 21.

Kullakin testikerralla 1 % ja 10 %:n jätevesilisisäys aiheutti bakteereille selvän inhibition Vilppulankoskea lukuun ottamatta kaikilla näytepisteillä. 4.9. ja 1.10.1979 testikerroilla (kuvat 17 ja 21) Vilppulankosken hajotusnopeus inhiboitui selvästi vasta 10 %:n jätevesilisisäyksellä. Kymmentä prosenttia pienemmällä jätevesilisisäyksellä Vilppulankosken heterotrofista toimintaa ei pystytty häiritsemään vaikka jäteveden väkevyys vaihteli eri testikerroilla.



Kuva 15. Hajoitusnopeus Mäntän tehtaiden ylä- (N 44) ja alapuolisissa (V, N 31 ja N 17) vesistöissä (0-2 m) kesällä 1979. Kuvan oikeassa ylä-laidassa oleva erillinen kuva esittää Mäntänlahden (ML) NaLS-pitoisuuksia syys-lokakuussa

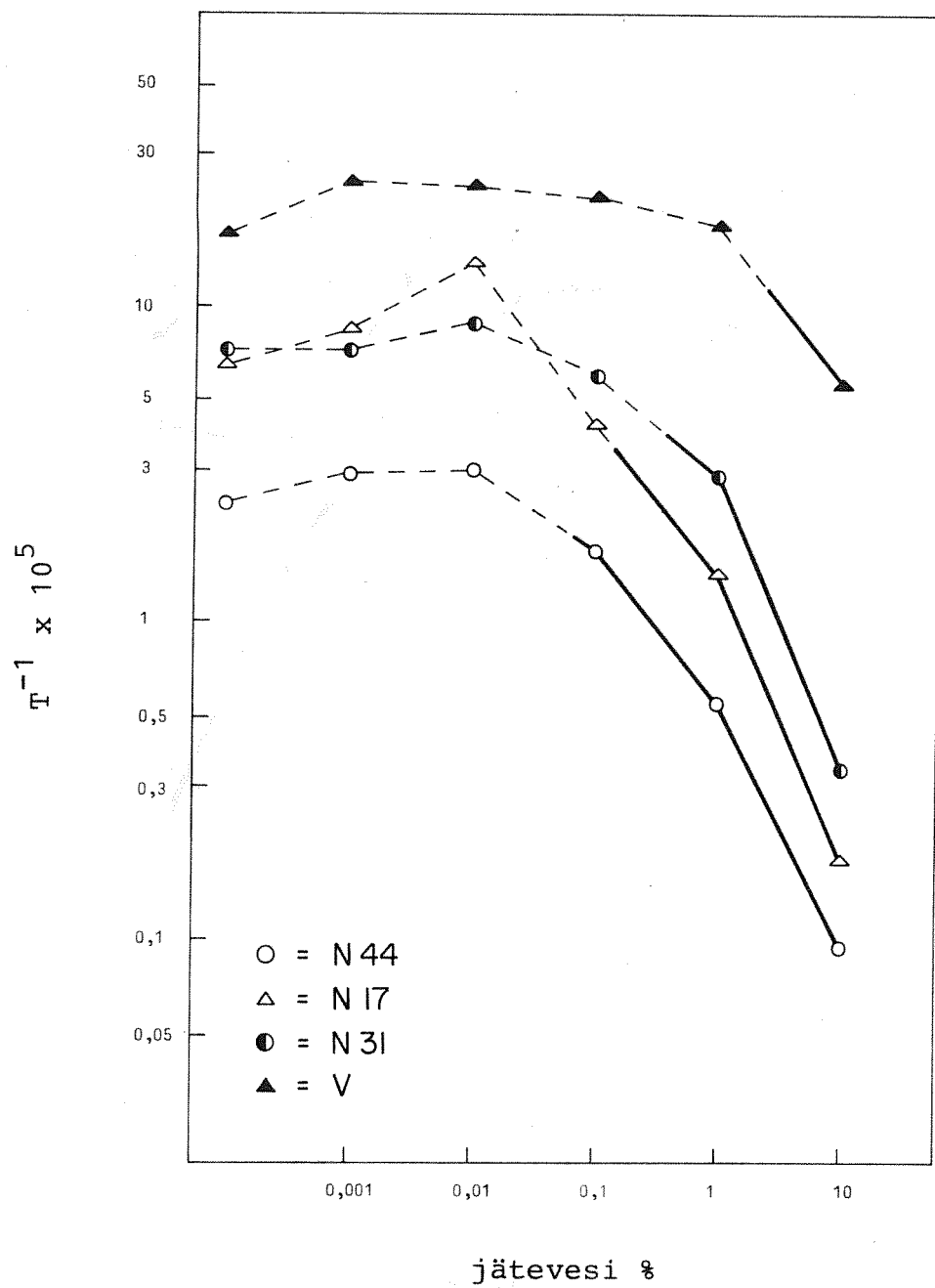


Kuva 16. Jätevesitesteissä käytetyn jäteveden (Mäntänlahti) laatu syys-lokakuussa 1979

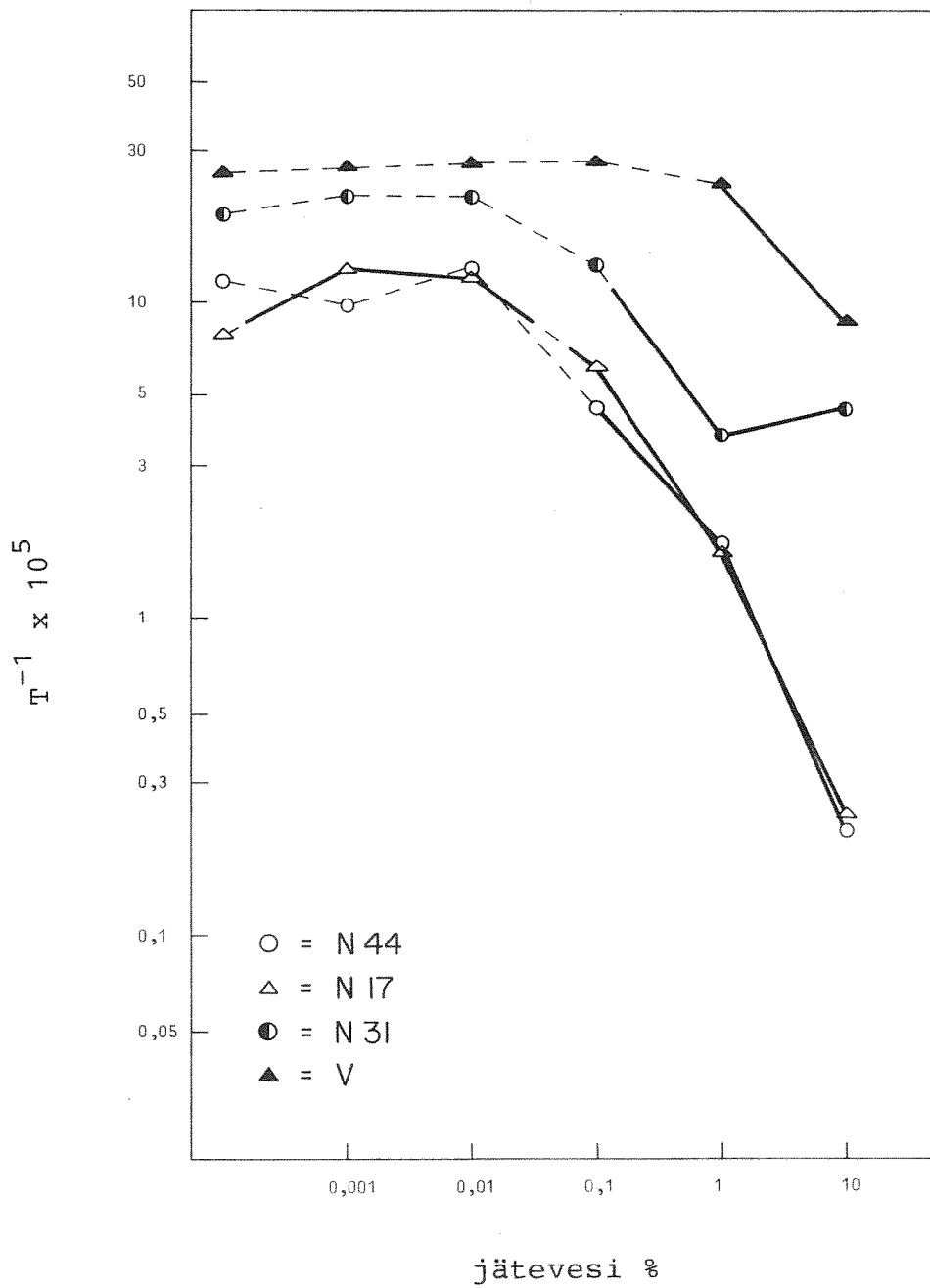
Yhden ja kymmenen prosentin jätevesilisäyksissä hajotusnopeus on suurimmillaan Vilppulankoskessa ja pisteessä N 31 (Vilppulankoskesta seuraava piste). Sekä Mäntän yläpuolisessa pisteessä että alapuolella pisteessä N 17 on hajotusnopeus 27.9.1979 testiä (kuva 20) lukuun ottamatta pienempi (huom. logaritminen asteikko). Jäteveden ollessa väkevää (27.9.1979) oli myös inhiboituminen suhteellisesti voimakainta. Kaikilla pisteillä, Vilppulankoskea lukuun ottamatta, saavutettiin inhibitoraja alhaisilla pitoisuuksilla. Yhden ja kymmenen prosentin jätevesipitoisuudet aiheuttivat romahdusmaisen inhibition.

Näytepisteiden N 17 ja N 44 kohdalla inhiboitumisen raja saavutettiin useissa tapauksissa jo 0,1 %:n jätevesipitoisuuksissa.

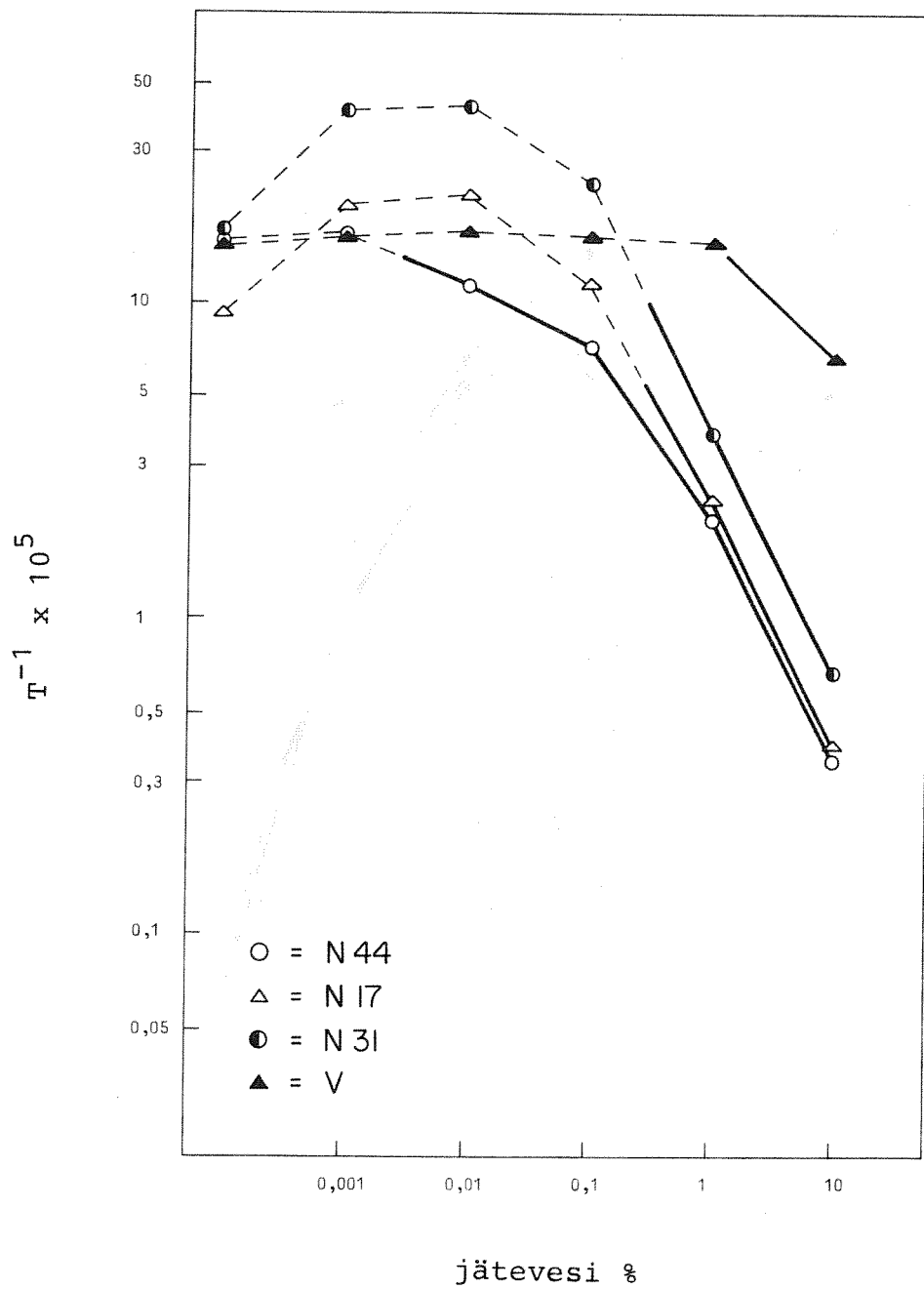
Stimulaatiota esiintyi alhaisilla jätevesipitoisuuksilla pisteessä N 17 13.9. ja 1.10.1979 testeissä (kuvat 18 ja 21).



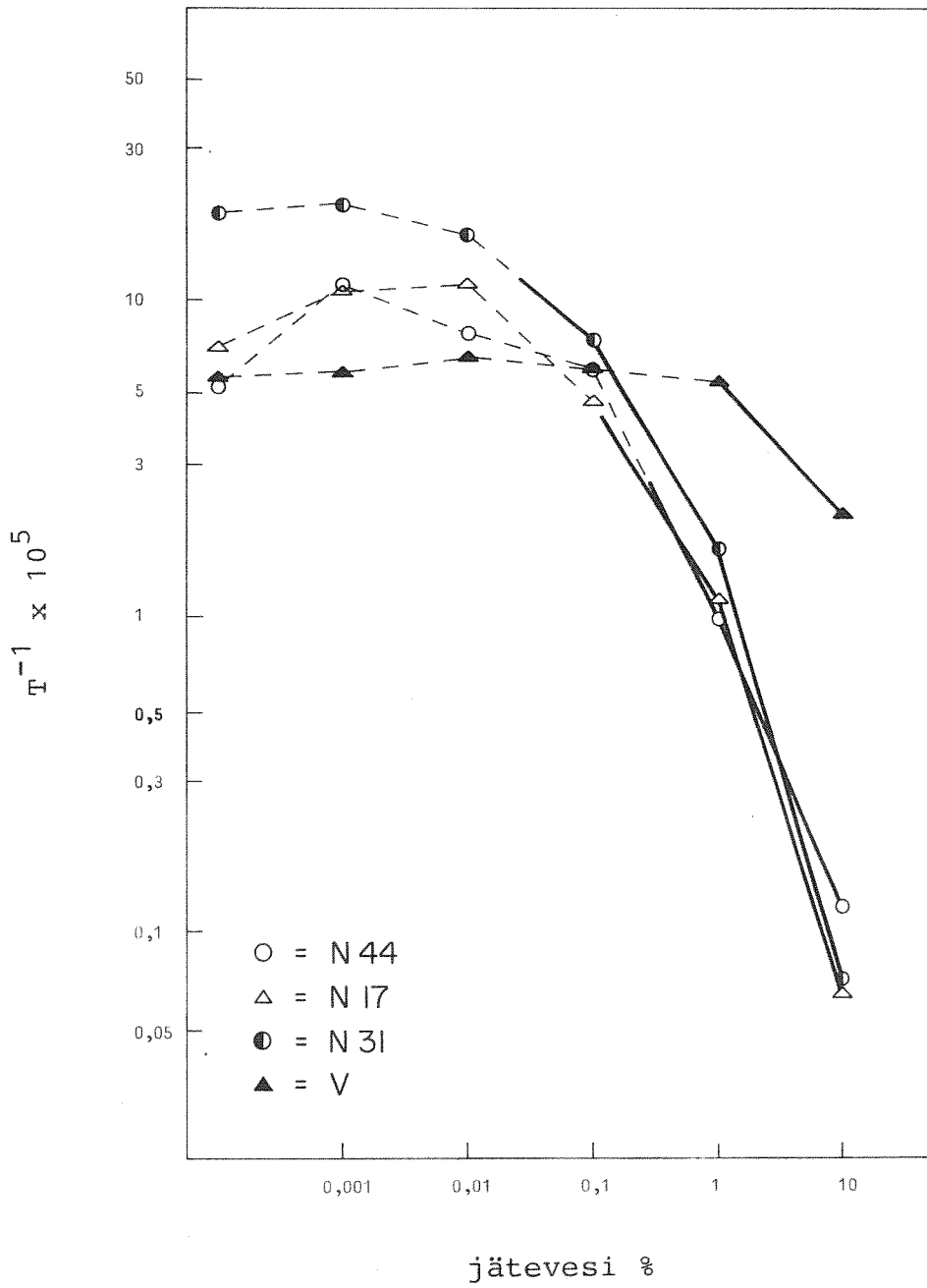
Kuva 17. Jäteveden vaikutus näytepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 bakteeriston hajotusnopeuteen 4.9.1979



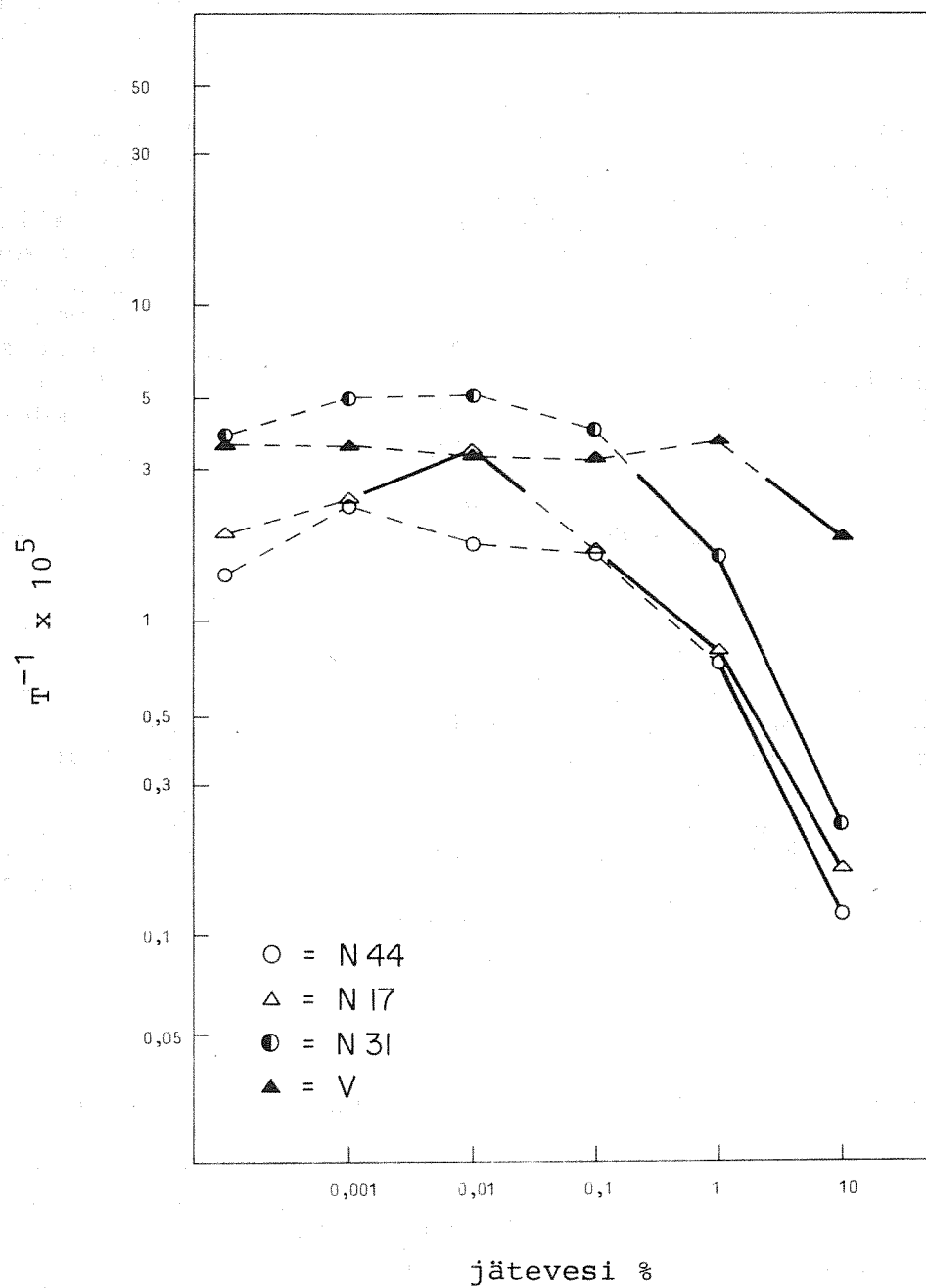
Kuva 18. Jäteveden vaikutus näytepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 bakteeriston hajotusnopeuteen 13.9.1979



Kuva 19. Jäteveden vaikutus näyttepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 bakteeriston hajotusnopeuteen 18.9.1979



Kuva 20. Jäteveden vaikutus näytepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 bakteeriston hajotusnopeuteen 27.9.1979



Kuva 21. Jäteveden vaikutus näytepisteiden N 44, V, N 31 ja N 17 bakteeriston hajotusnopeuteen 1.10.1979

2.3 TULOSTEN TARKASTELU

2.31 K o e j ä r j e s t e l y

Hajotusnopeuden mittaamisessa käytetyn radioaktiivisen merkkiaineen lisäyksen voitiin todeta tapahtuneen riittävän alhaisella, bakteeritoimintaa häiritsemättömällä tasolla (kuva 3).

Jätevesitesteissä käytetty inkubointiaika haluttiin valita lineaarisen osan (kuva 4) loppupäästä, koska jäteveden vaikutusaika testitilanteessa määräytyi inkubointiajan perusteella. Lyhyellä, vain muutaman tunnin vaikutusajalla ei luonnollisestikaan saada selville muuta kuin jäteveden akuutti toksisuusvaikutus. Lyhyen koeajan kuluessa organismit eivät myöskään ehdi geneettisesti muuntautua eli sopeutua jätevesilisäykseen. Talsi (1981) on tutkinut sulfaattiselloosatehtaan jätevesillä lyhytaikaista sopeutumisilmiötä. Kokeet osoittivat, että 0 - 5 tunnin sisällä ei tapahtunut merkittävää sopeutumista jäteveden 0,001 - 10 % pitoisuuksiin. Tulosta ei voi yleistää kaikkia puunjalostusprosesseja koskevaksi, koska vastaanottavan vesistön bakteeristo ja kuormituksen laatu, etenkin jäteveden ilmastusaste, yhdessä vaikuttavat sopeutumisilmiöön.

Jätevesitestejä varten otettiin pintavedestä kokoomanäyte 0-2 m. Pintavettä käytettiin testivetenä, sillä sen happipitoisuus mahdollisti kaikilla pisteillä aerobisten heterotrofisten bakteerien hajotusnopeuden määrittämisen. Toisaalta jäteaines kertyy pintavettä raskaampana tavallisesti syventeisiin, joissa se vaikuttaa voimakkaimmin eliöihin, mutta koska alusveden happitilanne oli kesäkuussa pisteellä N 31 huono, päätettiin tyytyä pintaveden hyväksikäyttöön testeissä. Pintavesi oli suhteellisen homogenista kesäkuun näytteenotolla, joten 0-2 m kokoomanäytettä voitiin pitää riittävän edustavana.

2.32 J ä t e v e s i t e s t i t

Jätevesitestien hajotusnopeuden perustason (jätevettä ei lisätty näytteeseen) määrittäminen tapahtui näytepisteen kokoomanäytteestä valmistetun kolmen osanäytteen avulla. Vaikka kokoomanäyte yritettiin homogenisoida voimakkaalla näyteastian sekoituksella, osoittautui näytteiden hajotusnopeuksien variaatiot sangen suuriksi (taulukko 4).

Taulukko 4. Jätevesitesteissä näytepisteistä määritetyt perustason vaihtelukertoimet (CV%). CV% on laskettu kolmen osanäytteen perusteella (kts. teksti yllä).

Näytepiste	N 44	V	N 31	N 17
ka. CV%	21,0	6,4	36,0	18,7
koetoistoja (kpl)	8	6	6	5

Suhteellisen suuriin vaihtelukertoimiin vaikutti orgaanisen aineen epätasainen jakautuminen kokoomänäytteessä. Bakteerit olivat ilmeisesti kiinnittyneinä näytteessä oleviin hiukkasiin, joita ei pystytty tasaisesti jakamaan eri näytepulloihin. Etenkin pisteessä N 31, jossa kuormituksen vaikutukset näkyivät orgaanisen aineen kertyminä selvästi, oli variaatiokerroin suuri. Sen sijaan Vilppulankoskessa, missä oli runsaasti kuitua ym. orgaanista ainesta, oli variaatiokerroin pieni. Pieni variaatiokerroin voi selittyä sillä, että näytevesi oli runsaasta kuitumäärästä ja muusta orgaanisesta aineesta johtuen tasaisen sameaa eikä erillisiä hiukkaskimppuja esiintynyt. Tällöin näyte pystytettiin jakamaan osanäytteisiin tasalaatuisempana. Lisäksi vaihtelukertoimen pienuuteen on vaikuttanut se, että voimakas jätevesikuormitus on todennäköisesti karsinut Vilppulankosken bakteerien lajilukumäärää ja sopeutumiskykyiset bakteerit esiintyvät runsaslukuisina. Resurssien puutteen vuoksi ei tässä työssä kuitenkaan voitu tutkia näytepisteiden bakteerilajistoa.

Osanäytteiden epähomogeenisuudesta on jätevesitesteissä sikäli haittaa, että stimulaatio- ja inhibitorajat määrättiin perustason 95 %:n luotettavuusrajojen perusteella. Täten perustason hajotusnopeuden vaihtelu näkyy leveänä inhibio- ja stimulaatorajana. Jätevesilisäykset eivät kuitenkaan pienentäneet tai suurentaneet variaatiokerrointa, joten leveästä raja-alueesta huolimatta perustason ja jätevetä vastaanottaneiden näytteiden välinen vertailtavuus säilyi hyvänä. Testitulosten tulokinnan ja kriteerin asettamisen kannalta olisi suotavaa tulevaisuudessa käyttää useampaa kuin kolmea rinnakkaista osanäytettä.

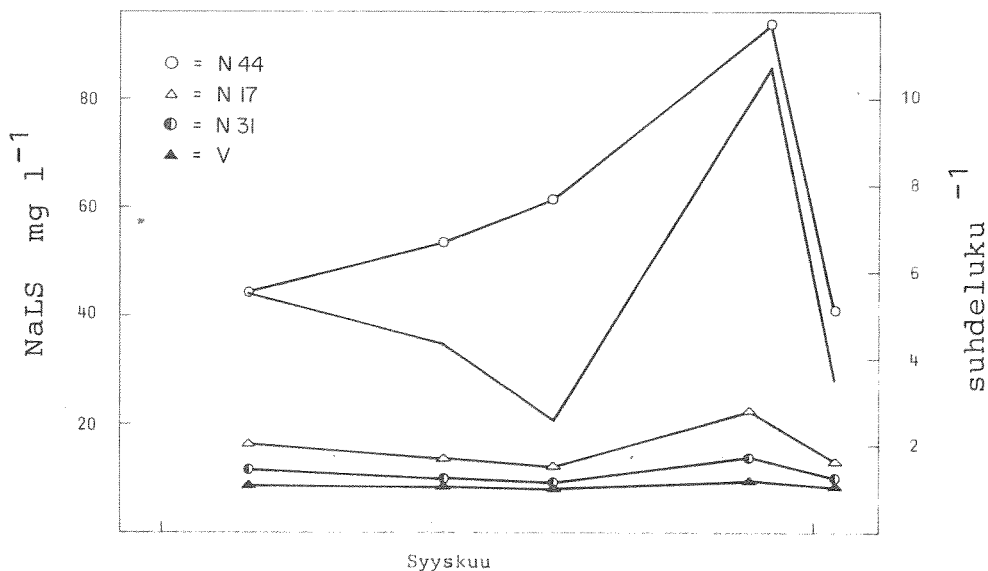
Vilppulankoskea lukuun ottamatta sekä 1 %:n että 10 %:n jätevesipitoisuudet inhiboivat näytepisteiden hajotustoimintaa. Moore ja Love (1977) havaitsivat sulfaattiselluloosatehtaan jätevesien inhiboivan epifyyttisten levien ja kasviplanktonin kasvua myös 1 %:n ja 10 %:n pitoisuuksissa. Tulosten yhteneväisyydestä huolimatta niitä ei voi suoraan verrata toisiinsa. Sulfiittiprosessin jätevesillä on yleensä todettu suurempaa akuuttia toksisuutta kuin sulfaattiprosessin jätevesillä, jotka puolestaan sisältävät pysyvämpiätoksiineja (Seppovaara ja Numminen 1974, Eloranta 1976 b).

Voimakkaimmillaan jäteveden inhiboiva vaikutus oli 27.9.1979 testissä, jolloin käytössä ollut jätevesi oli väkevintä (kts. kuva 16). Hajotustoiminnan inhiboituminen alkoi jo 0,1 %:n jätevesipitoisuudessa ja etenkin näytepisteen N 31 bakteeritoiminta inhiboitui selvästi (kuva 20).

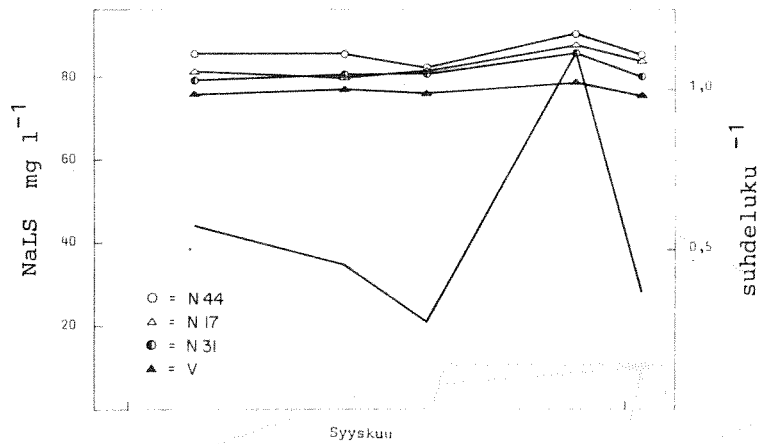
Jäteveden suhteellinen vaikutus eri testikerroilla on esitetty kuvina (22 - 25). Kuvassa 22 on esitetty NaLS-pitoisuuden muutos, kun näyteveteen on lisätty 10 % jätevetä. Ligniinin on edellä todettu kuvaavan parhaiten jäteveden läsnäoloa näytevedessä. Kun Vilppulankosken veteen lisätään 10 % jätevetä, muuttuu veden NaLS-pitoisuus vain hyvin vähän kaikilla testikerroilla. Sen sijaan pisteen N 44 NaLS-pitoisuus muuttuu jätevesilisäyksen myötä varsin selvästi. Seuraavaksi parhaiten jätevesilisäys näkyy pisteen N 17 vedessä ja sen jälkeen N 31 vedessä eli pisteet asettuvat jätevesikuormituksen suhteen puhtaus-

järjestykseen; N 44, N 17, N 31 ja V (vert. kartta 1). Voimakkaimmin 10 %:n jätevesilisäys muuttaa näytepisteiden fysikaalis-kemiallista tilaa 27.9.1979 testikerralla. Sähkönjohtavuudessa ja pH:ssa (kuvat 23 ja 24) ei jätevesilisäyksen muutos ole yhtä selväpiirteistä kuin NaLS:n kohdalla, mutta myös niistä voidaan todeta Vilppulankosken tilan vähäinen muutos. Hajotusnopeuden muutos (kuva 25) ei seuraa tarkasti fysikaalis-kemiallisia muuttujia, mutta Vilppulankosken tilan muuttumattomuus ilmenee samoin kuin fysikaalis-kemiallisissa muuttujissa. Jäteveden ollessa väkevimmillään (27.9.) muuttui näytepisteen N 31 kiertonopeus selvästi muita pisteitä voimakkaammin. Vastaavanlainen muutos on havaittavissa pH-kuvaajassa, minkä lisäksi näytteenottopisteiden suhteellisen muutoksen järjestys on sama pH- ja T^{-1} -kuvaajilla.

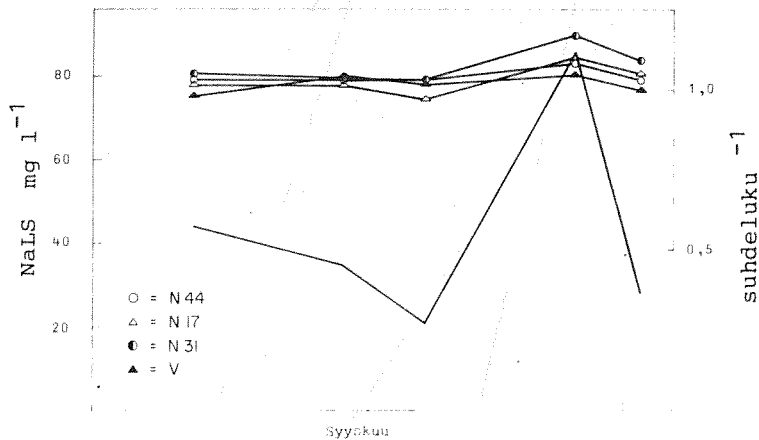
Hajotusnopeuden, pH:n, vetyionipitoisuuden, NaLS:n, sähkönjohtavuuden ja alkaliniteetin suhteelliset muutokset 0,1, 1,0 ja 10 %:n jätevesilisäyksillä on esitetty kuvissa (26 - 29). Kuvista todetaan yhden ja kymmenen prosentin jätevesilisäyksen vaikuttavan voimakkaimmin hajotusnopeuteen. Vilppulankoskessa (kuva 27) ja Mäntän yläpuolisessa pisteessä (kuva 26) voidaan todeta 0,1 %:n jäteveden lievä "stimulaatiovaikutus" perustasoon nähden. Kuvista voidaan havaita vetyionipitoisuuden, alkaliniteetin ja NaLS:n muuttuvan samansuuntaisesti hajotusnopeuden kanssa. Tuloksista kannattaa kiinnittää huomiota vetyionipitoisuuden ja hajotusnopeuden väliseen yhdenmukaisuuteen. Pelkän pH-muutoksen perusteella ei yhdenmukaisuutta havaita, mutta kun pH tulostetaan vetyionipitoisuutena ($\text{pH} = \text{vetyionipitoisuuden negatiivinen logaritmi}$) niin yhdenmukaisuus T^{-1} :n kanssa tulee ilmi.



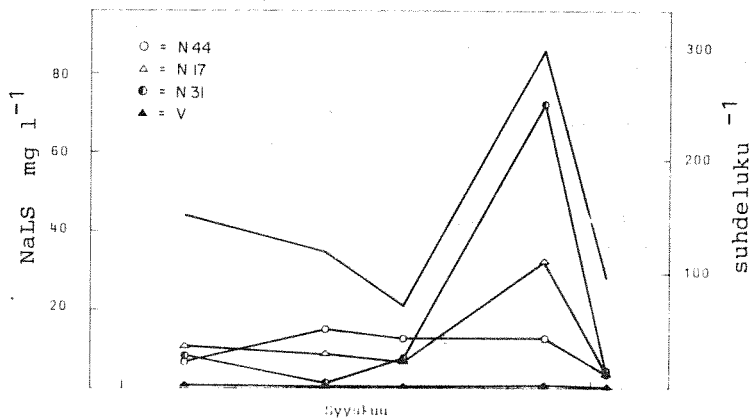
Kuva 22. Jäteveden (10 %) suhteellinen vaikutus näyteveden NaLS-pitoisuuteen eri testikerroilla. Symboliton viiva esittää jäteveden NaLS-pitoisuutta testiajankohdasta.



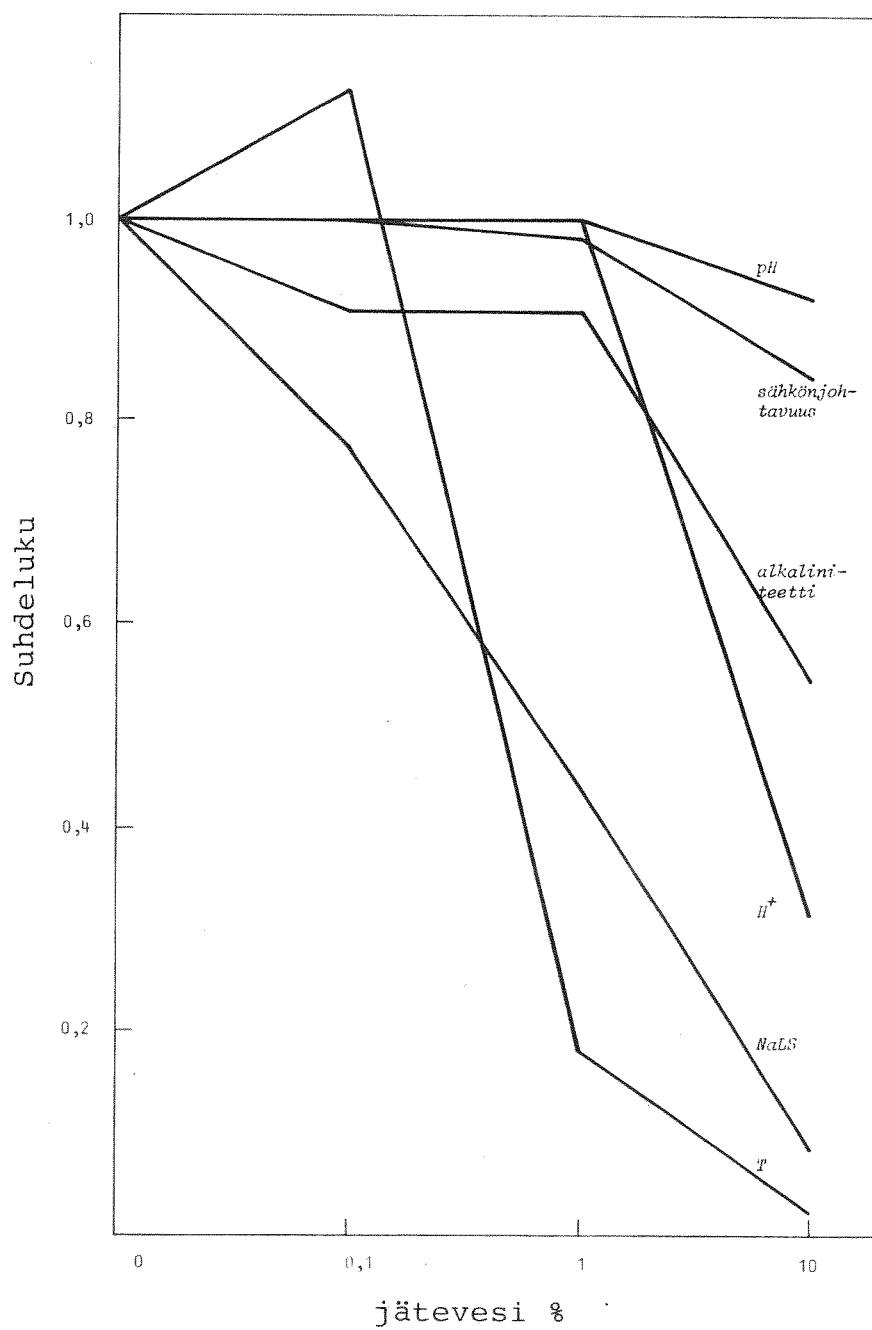
Kuva 23. Jäteveden (10 %) suhteellinen vaikutus näyteveden sähkönjohtavuuteen eri testikerroilla. Symboliton viiva esittää jäteveden NaLS-pitoisuutta testiajankohtana



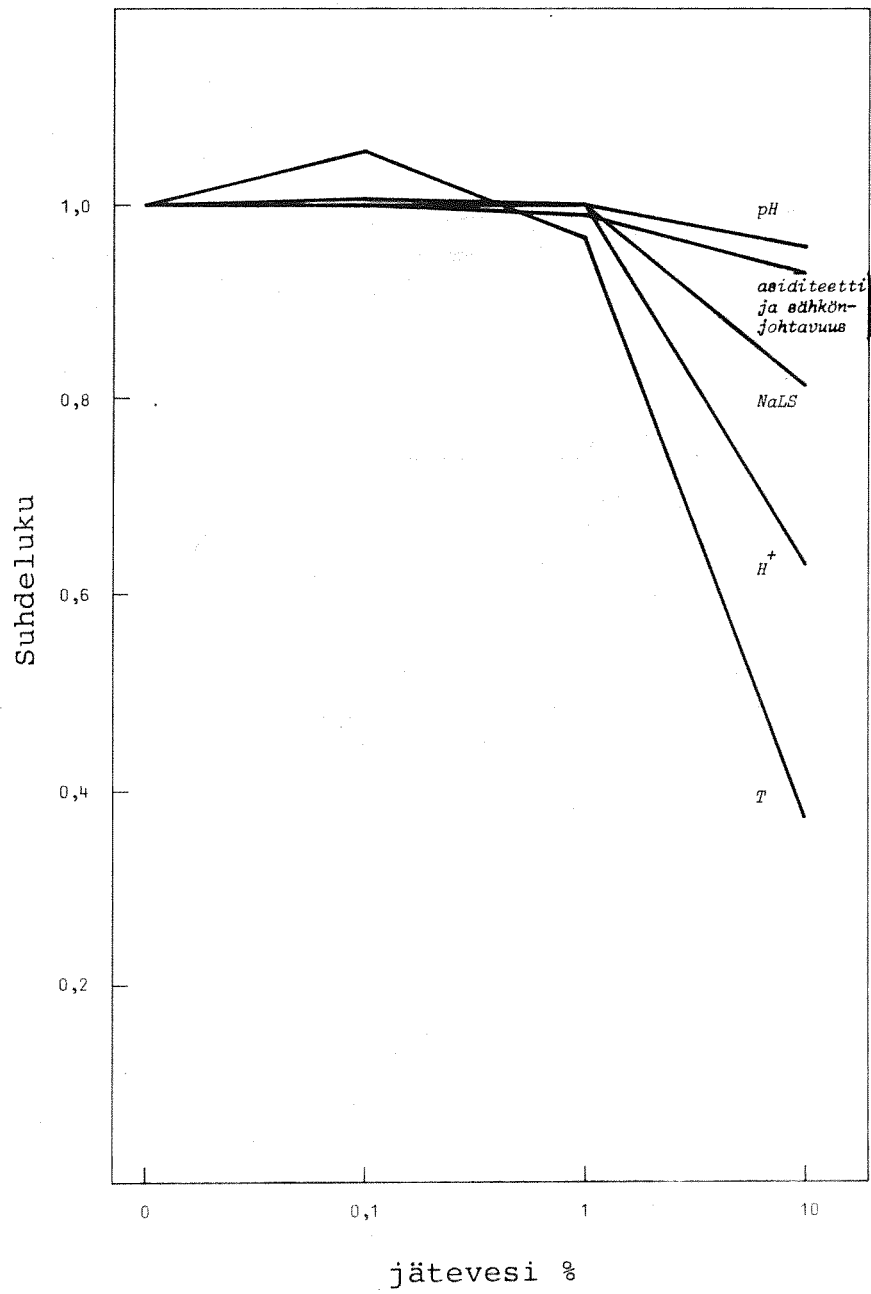
Kuva 24. Jäteveden (10 %) suhteellinen vaikutus näyteveden happamuuteen eri testikerroilla. Symboliton viiva esittää jäteveden NaLS-pitoisuutta testiajankohtana



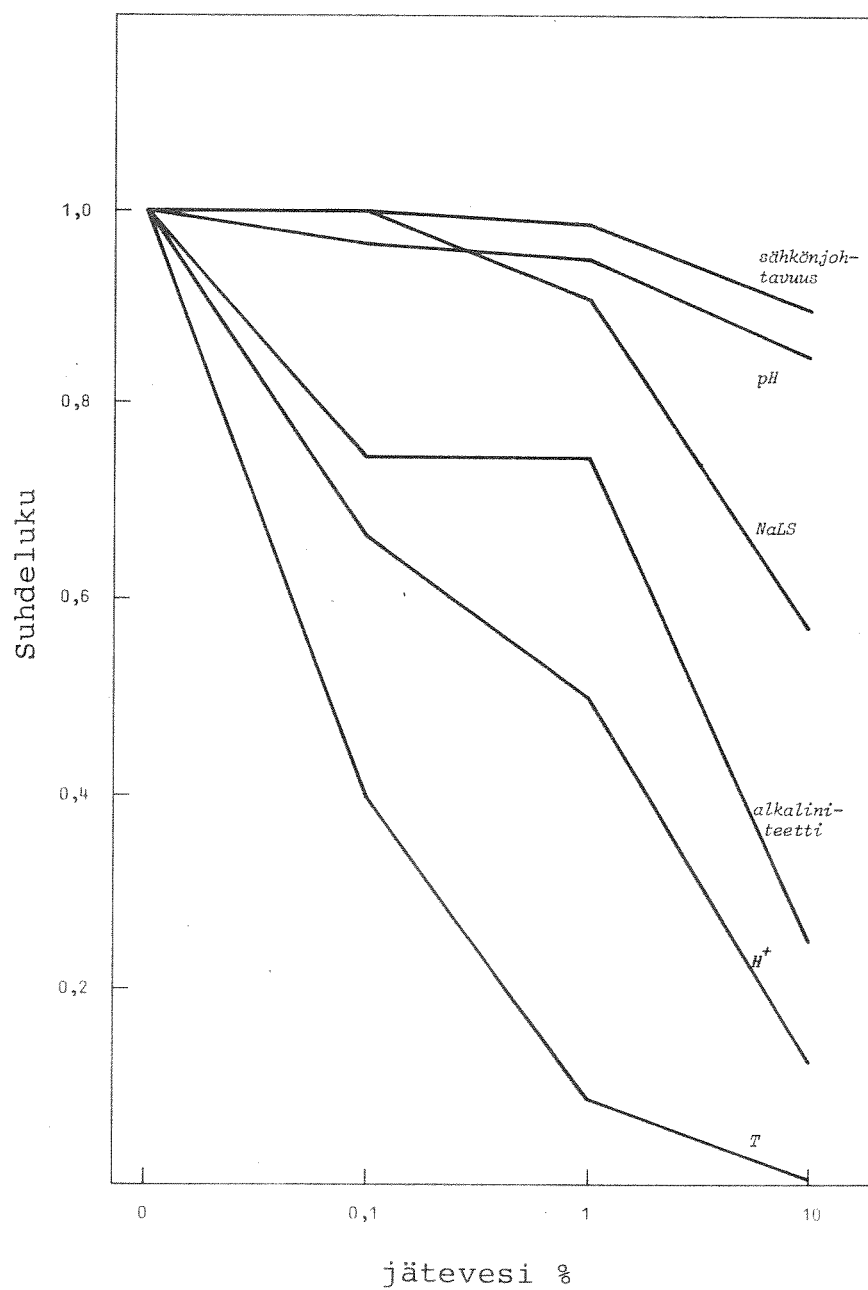
Kuva 25. Jäteveden (10 %) suhteellinen vaikutus näyteveden hajoitusnopeuteen eri testikerroilla. Symboliton viiva esittää jäteveden NaLS-pitoisuutta testiajankohtana



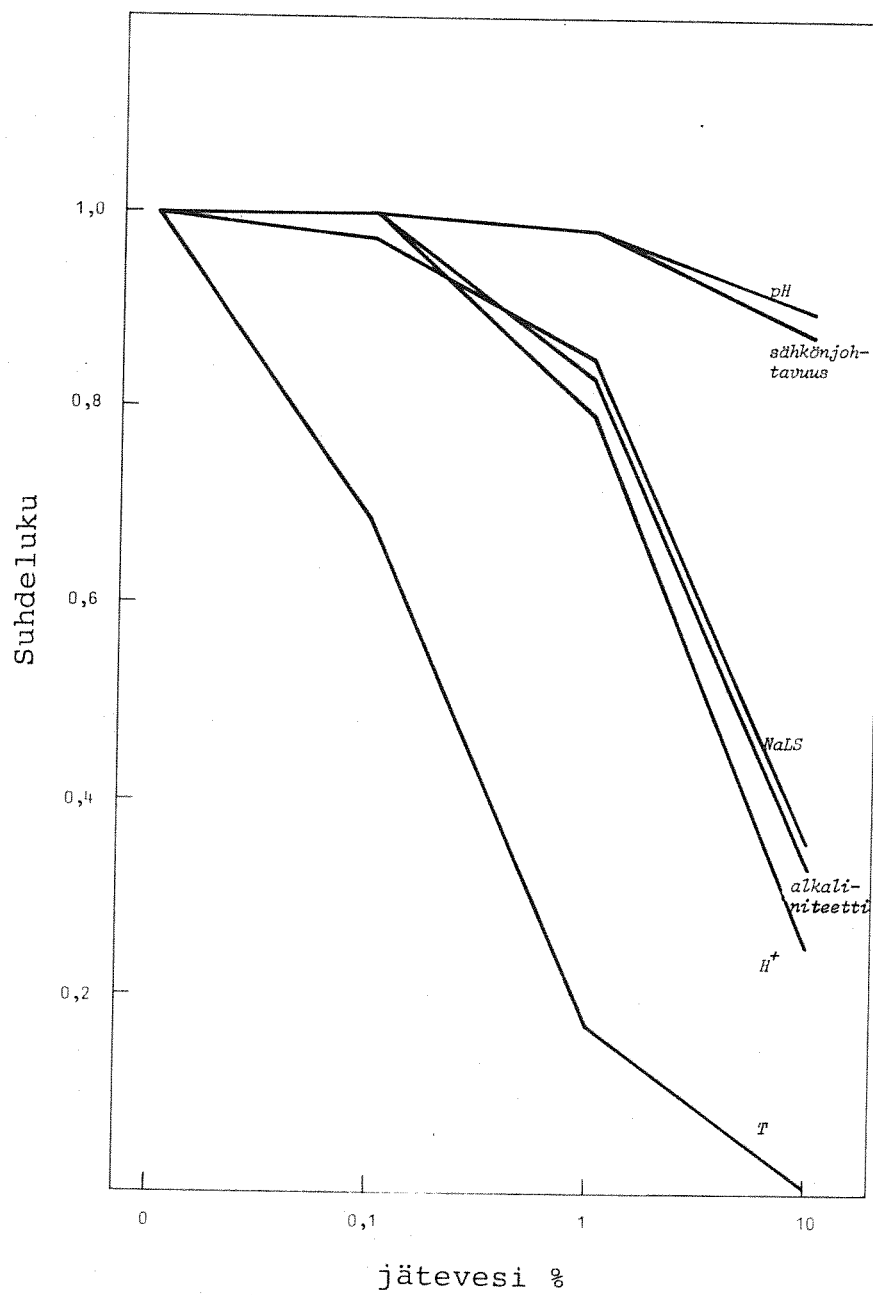
Kuva 26. Jätevesilisäyksen suhteellinen vaikutus näytesteen N 44 muuttujien arvoihin 27.9.1979



Kuva 27. Jätevesilisäyksen suhteellinen vaikutus näytetepisteen V muuttujien arvoihin 27.9.1979



Kuva 28. Jätevesilisäyksen suhteellinen vaikutus näytetepisteen N 31 muuttujien arvoihin 27.9.1979



Kuva 29. Jätevesilisäyksen suhteellinen vaikutus näytteen N 17 muuttujien arvoihin 27.9.1979

Eloranta ja Eloranta (1974), Eloranta (1976 a ja b, 1978) Moore ja Love (1977) ovat todenneet vetyionipitoisuuden inhiboivan voimakkaasti levätuotantoa. Inhibition lisäksi alhainen pH vaikeuttaa levätuotantomittauksissa näyteveden epäorgaanisen hiilen määrittystä. Hajotustoiminnan mittaamisessa ei alhaisista tai korkeista pH:sta ole mittausteknistä haittaa, kuten perustuotantomittauksissa, mutta on aivan ilmeistä, että myös bakteeritoiminta on riippuvaista veden pH:sta ja että ainakin lyhytaikaisissa toksisuustesteissä vetyionipitoisuuden muutoksella voi olla ratkaiseva merkitys tulosten tulkintaan. Tällöin olisi koetilanteessa otettava huomioon myös ekologinen realiteetti eli koeastiassa pH-muutoksen olisi vastattava jäteveden aiheuttamaa pH-muutosta luonnossa. Kymmenen prosentin jätevesilisisäys ylittää purkualueen aivan välitöntä läheisyyttä lukuun ottamatta alapuolisen vesistön pintaveden jätevesipitoisuudet, joten pisteiden N 44, N 31 ja N 17 testeissä pH:n vaikutus korostaa jäteveden muita toksisia vaikutuksia. Vesiensuojelua ajateltaessa, pH:n aiheuttamat haitat on helposti poistettavissa neutraloimalla jätevedet ennen vesistöön päästöä.

2.33 A d a p t a a t i o b a k t e e r i t o k s i s u u s t e s - t e i s s ä

Bakteerien kyky sopeutua nopeasti ympäristön muutoksiin on johtanut toksisuustesteissä siihen, että bakteereita voidaan käyttää etupäässä vain lyhyen aikavälin testeissä, ns. akuutin toksisuuden toteamiseen screening testinä (Mentzel 1977, Solyom 1978).

Mäntän alapuolella tehdyissä tutkimuksissa saatiin viitteitä bakteerien sopeutumisesta korkeisiin jätevesipitoisuuksiin. Kesäkuun näytteenotossa oli perustuotantokyky selvästi inhiboitunut Vilppulankoskessa, mutta hajotustoiminta yläpuolisista vesistöä vilkkaampaa (kuvat 6 ja 15). Voimakas kuormitus on ilmeisesti karsinut bakteeriston sellaiseksi, että jäljelle ovat jääneet lajit, jotka kestävät alhaista happi- ja korkeaa jätevesipitoisuutta.

Siirryttäessä pisteelle N 31, voidaan perustuotantokyvyn todeta edelleen olevan inhiboituneen, mutta hajotustoiminnan olevan vilkkaimmillaan. Suurimmat hajotusnopeuden arvot vastaavat neljän-viiden tunnin kiertoaikoja glukosille. Hajottajabakteereilla on siis mitä parhaat elinmahdollisuudet tällä pisteellä, vaikka levätuotantokyky on inhiboituneena.

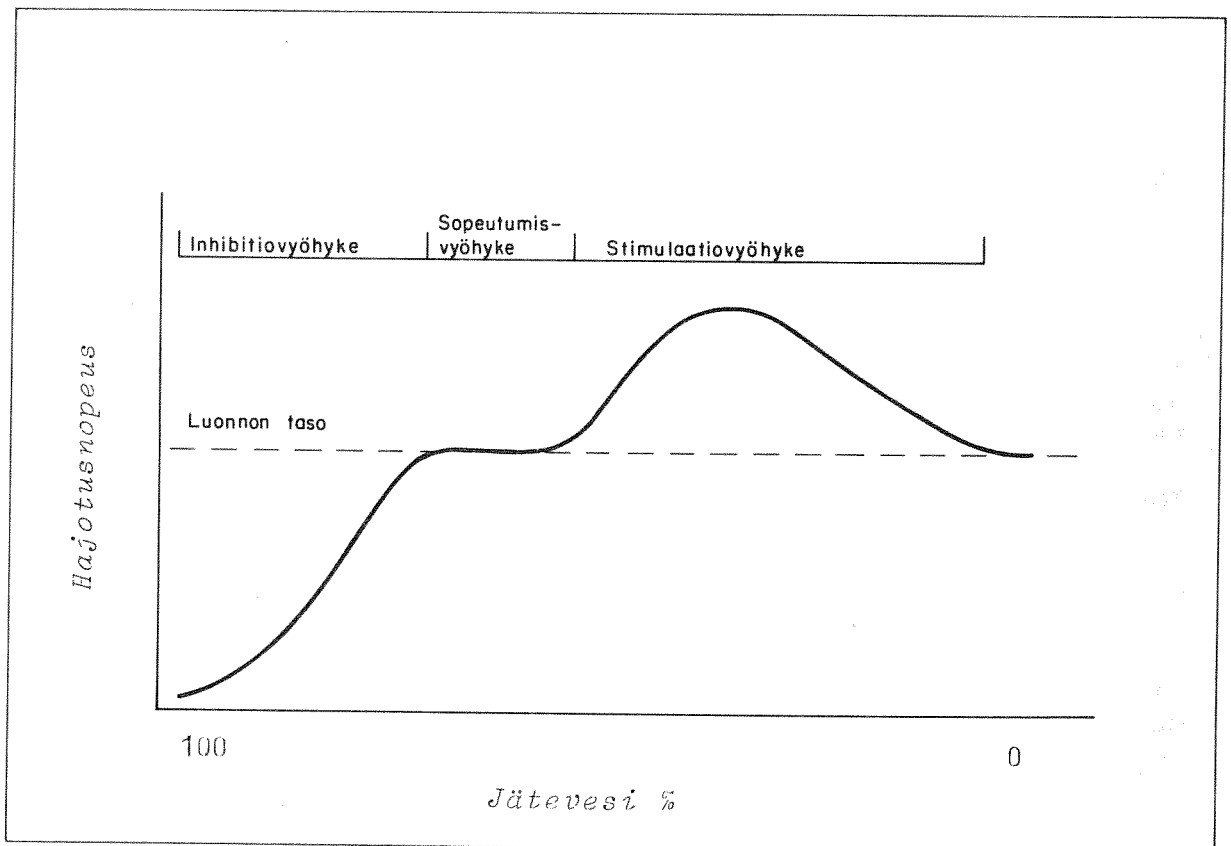
Jätevesitesteissä Vilppulankosken bakteerien adaptaatio tulee esille verrattaessa 10 %:n jätevesilisisäyksen vaikutuksia eri ajankohtina. Riippumatta jätevesiväkevyyden vaihteiluista (kuva 25) ei jätevesilisisäyksen aiheuttama suhteellinen muutos ole merkittävästi erilainen.

Kun tarkastellaan 1 ja 10 %:n jäteveden vaikutusta hajotusnopeuteen (kuvat 17 - 21) todetaan, että piste N 44 inhiboi tuu eniten ja Vilppulankoski vähiten, ja että inhiboitumisen voimakkuus noudattaa järjestystä N 44, N 17 ja V (vert. kart-

ta 1).

Lievää jätevesikuormitusta ajatellen on bakteerien sopeutumiskyvystä hyötyä, sillä vesistössä pääsevät vallalle kuormitusta sietävät tai kuormituksesta hyötyvät bakteerilajit, jolloin vesistön nopea itsepuhdistuminen on mahdollista.

Orgaanista ainetta ja ravinteita veteen päästävän laitoksen vaikutusta heterotrofiseen toimintaan on luonnehdittu kuvassa 30.



Kuva 30. Metsäteollisuuden jätevesien vaikutus (teoriassa) alapuolisen vesistön hajotustoimintaan

Purkualueen lähistöllä heterotrofien toiminta on inhiboitunut. Jätevesipitoisuuden vähetessä saavutetaan tila, jossa sopeutumiskykyisemmät bakteerilajit pystyvät toimimaan. Sopeutumisvyöhykkeelle on tunnusomaista alhainen organismien lajilukumäärä. Tämän ovat todenneet mm. Singleton ja Guthrie (1977) ja Thomas ja Seibert (1977). Lajilukumäärän vähäisyydestä huolimatta sopeutumisvyöhykkeen hajotusaktiiviteetti saattaa olla korkea.

Jätevesipitoisuuden edelleen vähetessä yhä useampi bakteerilaji menestyy kilpailussa ja jäteveden substraatti- ja ravinnevaikutus alkaa ilmetä kiihtyneenä hajotusaktiviteettina.

Eloranta ja Eloranta (1974) havaitsivat levätuotannon stimuloitumista Mäntän tehtaiden vaikutusalueella jätevesipitoisuuksissa 1 - 2 % ja selvää inhibitiota 6 - 10 % jätevesipitoisuuksissa. Hajotustoiminnan todettiin syys-lokakuussa tehdyissä kokeissa inhiboituvan Vilppulankoskessa 10 %:n pitoisuudessa ja pisteillä N 31, N 17 ja N 44 yhden ja kymmenen prosentin pitoisuuksissa. Tulosten perusteella voidaan epäsuorasti arvioida vastaanottavan vesistön jätevesipitoisuuksien olleen tänä ajankohtana Vilppulankoskessa kymmenen ja muissa pisteissä yhden prosentin tasolla, sillä vasta näitä pitoisuuksia vastaavat lisäykset aiheuttivat muutoksia näytteen hajotusnopeudessa (kuvat 17 - 21) ja fysikaalis-kemiallisissa ominaisuuksissa (kuvat 26 - 29).

Eloranta ja Eloranta (1974) Rainville ym. (1975) ja Moore ja Love (1977) ovat todenneet selluloosatehtaan jätevesien toksisuuden vähenevän huomattavasti jätevettä ilmastettaessa tai seisottamalla jätevettä avoimessa astiassa, joten osa toksisuudesta aiheutuu helposti haihtuvista yhdisteistä.

Jätevesitestien koejärjestelyllä pyrittiin helposti haihtuvien toksisten yhdisteiden vaikutuksen eliminoimiseen ottamalla jätevesinäyte Mäntänlahdelta pintanäytteenä ja suodattamalla (ilmastus) se ennen testiveteen lisäystä (kohta 2.12). Suodatuksen tarkoituksena oli myös poistaa jätevedessä olevat organismit ympäristövaikutuksen poistamiseksi.

Koejärjestelystä johtuen oletettiin stimulaatiovaikutuksen tulevan esille pienissä jätevesipitoisuuksissa. Oletuksen tukena oli Elorannan (1978) havainnot leväkasvun stimuloimisesta jäteveden ilmastuksen jälkeen.

Jätevesitesteissä todettiin stimulaatiovaikutus ainoastaan pisteessä N 17 (kuvat 18 ja 21). Stimulaatiovaikutuksen näkymättömyyteen on ilmeisesti vaikuttanut perustason suuret hajoajat (kts. esim. kuva 19). Myös koejärjestelystä johtuvat tekijät: lyhyt inkubointiaika sekä karkea jätevesilisäysskaala ovat ilmeisesti vaikuttaneet stimulaation näkymättömyyteen. Pisteessä N 17, missä jätevesiä ei ole selvästi havaittu, on pienten jätevesimäärien lisäys ilmeisesti parantanut näytteen substraatti- tai ravinnetasoa ja täten kiihdyttänyt hajotusnopeutta. Sen sijaan voimakkaan kuormituksen alaisissa pisteissä pienet jätevesilisäykset eivät ole oleellisesti muuttaneet hajotustoiminnan edellytyksiä.

Tulokset osoittavat heterotrofisten bakteerien hajotusnopeuden mittausten menetelmän soveltuvan hyvin jätevesien akuutin toksisuuden tutkimiseen. Käytettäessä vastaanottavan vesistön luontaista bakteeristoa testiorganismeina, voidaan tuloksista suoraan päätellä jäteveden vaikutuksista vastaanottavan vesistön tilaan. Saadut tutkimustulokset ovat samansuuntaisia leväpuhdasviljelmillä tehtyjen toksisuustestien (esim. Eloranta 1978) kanssa. Käytetyn menetelmän herkkyydestä ja

nopeudesta johtuen se soveltuu hyvin screening-testiksi.

3 ERÄIDEN RASKASMETALLI- JA ORGAANISTEN YHDISTEIDEN VAIKUTUS TAMPEREEN PYHÄJÄRVEN HETEROOTROFISTEN BAKTERIERIEN HAJOTUSNOPEUTEEN

3.1 AINEISTO JA MENETELMÄT

3.11 Näytteenotto

Vesinäytteet otettiin kokoomanäytteenä 0-2 m Pyhäjärvestä pisteestä NP 10 (kartta 2, liitteenä). Näytteiden kuljetus ja säilytys tapahtui kuten kohdassa 2.11 on esitetty.

3.12 Testattavien yhdisteiden lisäykset hajotusnopeuden määrittämissä

Kokoomanäytteestä valmistettiin toksisuustestejä varten 50 ml:n osanäytteitä 100 ml:n serumpulloihin. Osanäytteeseen lisättiin 0,5 ml testattavan yhdisteen tislattuun veteen tehtyä laimennusta. Kustakin testatusta yhdisteestä valmistettiin vähintään 5 laimennusta: 100, 10, 1, 0,1 ja 0,01 ppm. Täten kustankin yhdisteestä saatiin osanäytteiden pitoisuuksiksi 1 - 0,0001 ppm. Eräiden yhdisteiden testauksessa käytettiin myös pitoisuutta 10 ppm. Kustakin laimennuksesta tehtiin kolme osanäytettä ja nollanäyte.

Pyhäjärven hajotusnopeuden perustaso määritettiin 5 rinnakkaisen osanäytteen (+ nollanäyte) perusteella.

3.13 Vesinäytteestä määritetyt muuttujat

Vesinäytteistä määritettiin kohdassa 2.13 esitetyt muuttujat (V). Hajotusnopeuden määrittäminen tapahtui analogisesti kohdan 2.13 kanssa.

3.14 Testattavat yhdisteet

Pyhäjärven todellisten raskasmetalli- ja erilaisten orgaanisten yhdisteiden pitoisuustietojen puuttuessa, valittiin testattavat yhdisteet 1) Teollisuuden vesitilastot ja myrkkytiedustelu 1975 - 2) Tampereen teollisuuden jätevesi- ja sadevesianalyysit vv. 1977 - 1978 tietojen perusteella. Tulosten tulkittavuuden helpottamiseksi päätettiin valita yleisesti tunnettuja toksisia ja ei-toksisia yhdisteitä (taulukko 5).

Raskasmetallit valittiin 27 yli 10 000 m³/v jätevettä laskevien teollisuuslaitosten jätevesitietojen perusteella. Kaikkien otannassa olleiden 27 teollisuuslaitoksen jätevedet sisälsivät kuparia ja sinkkiä. Seuraavaksi yleisin yhdiste oli kromi. Edellisiä yhdisteitä selvästi vähemmässä määrin laskettiin veden lyijyä ja kadmiumia.

Testeissä seurattiin myös neutraalien yhdisteiden; glukoosin ja kalsiumin inhibiitiovaikutusta menetelmän luotettavuuden kontrolloimiseksi. Lisäksi seurattiin natriumlaurylsulfaatin, anisolin ja fenolin aiheuttamia reaktioita.

Taulukko 5. Toksisuustesteissä käytetyt kemialliset yhdisteet

Testattava komponentti	Yhdisteen rakenne
Cu	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
Zn	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$
Cr	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$
Ca	CaCl_2
Fenoli	$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$
Anisoli	$\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_5$
Na-laurylsulfaatti	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3\text{Na}$
Etikkahappo	CH_3COOH
Glukoosi	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

3.2 TULOKSET

3.21 Näytteenottopisteen pintaveden fyysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila

Pintaveden fyysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila tutkimus-ajanjaksona on esitetty taulukossa 6.

Taulukko 6. Tampereen Pyhäjärven NP 10 pintaveden (0-2 m) fyysikaalis-kemiallinen ja biologinen tila kesällä 1979

Muuttuja	Päivämäärä				
	11.6.	19.8.	23.8.	30.8.	14.10.
$t^{\circ}\text{C}$	14,3	20,1	16,9	16,6	8,4
O_2 %	82	110	65	75	80
sähkönjohtavuus (mS/m)	10	8,9	8,6	8,4	9,0
alkaliniteetti (mval/l)	0,09	0,04	0,06	0,06	0,06
pH	6,2	6,6	6,1	6,2	6,1
väri	-	60	70	65	65
NaLS (mg/l)	9,0	8,0	7,5	7,5	7,5
Kok. N (ug/l)	970	640	760	680	820
Kok. P (ug/l)	45	31	34	37	30
$\text{PO}_4\text{-P}$ (ug/l)	7	3	11	14	11
Klorofylli a (ug/l)	25	20	6,7	5,6	1,6
Perustuotantokyky netto ($\text{mgC/m}^3/\text{d}$)	500				31
Hajotusnopeus (h^{-1})	0,080	0,063	0,082	0,022	0,008

Elokuussa tehdyissä toksisuustesteissä Pyhäjärven veden laatu oli sangen vakaa (taulukko 6), joten eri yhdisteiden välinen toksisuuden vertailu on mahdollista vaikka näytteenottojen välillä on ajallista eroavuutta. Sen sijaan lokakuussa, jolloin biologinen aktiviteetti oli alhainen, voidaan todeta veden fysikaalis-kemiallisen ja biologisen tilan vaikuttavan eri tavalla kuin elokuussa.

3.22 Toksisuustestit

Toksisuustestien tulokset on esitetty kuvina 31 - 34. Kaikissa kokeissa pidettiin kuparia vertailuyhdisteenä, koska se osoittautui ensimmäisessä kokeessa selvästi toksisimmaksi yhdisteeksi.

Ensimmäisessä kokeessa (kuva 31) seurattiin kuparin, kromin, sinkin, kalsiumin ja etikkahapon vaikutusta hajotusnopeuteen. Inhibitio- ja stimulaatorajoina ovat perustason 99 %:n luotettavuusrajat (katkoviiva kuvissa).

Kupari alkoi inhiboida hajotustoimintaan 0,1 ppm:n pitoisuudessa ja 1 ppm:n pitoisuudessa hajotusnopeus putosi yli yhden kertaluokan perustasosta. Kromin inhibitiovaikutus alkoi 1 ppm:n pitoisuudessa, mutta sekä sinkin että kalsiumin aiheuttamat muutokset hajotusnopeudessa jäivät luotettavuusrajojen sisälle eli niiden ei todettu olevan testipitoisuuksissa inhibitiivisiä. Kalsiumia voidaan pitää vesistöissä pieninä pitoisuuksina neutraalina yhdisteenä, joten sen ei oletettukaan osoittavan inhibitiivistä luonnetta. Sinkin vaihtelurajojen suuruus saattaa olla osoitus jonkinasteisesta häiriöstä hajotustoiminnassa, mutta selvää toksisuutta ei voitu havaita 1 ppm:n pitoisuudessa.

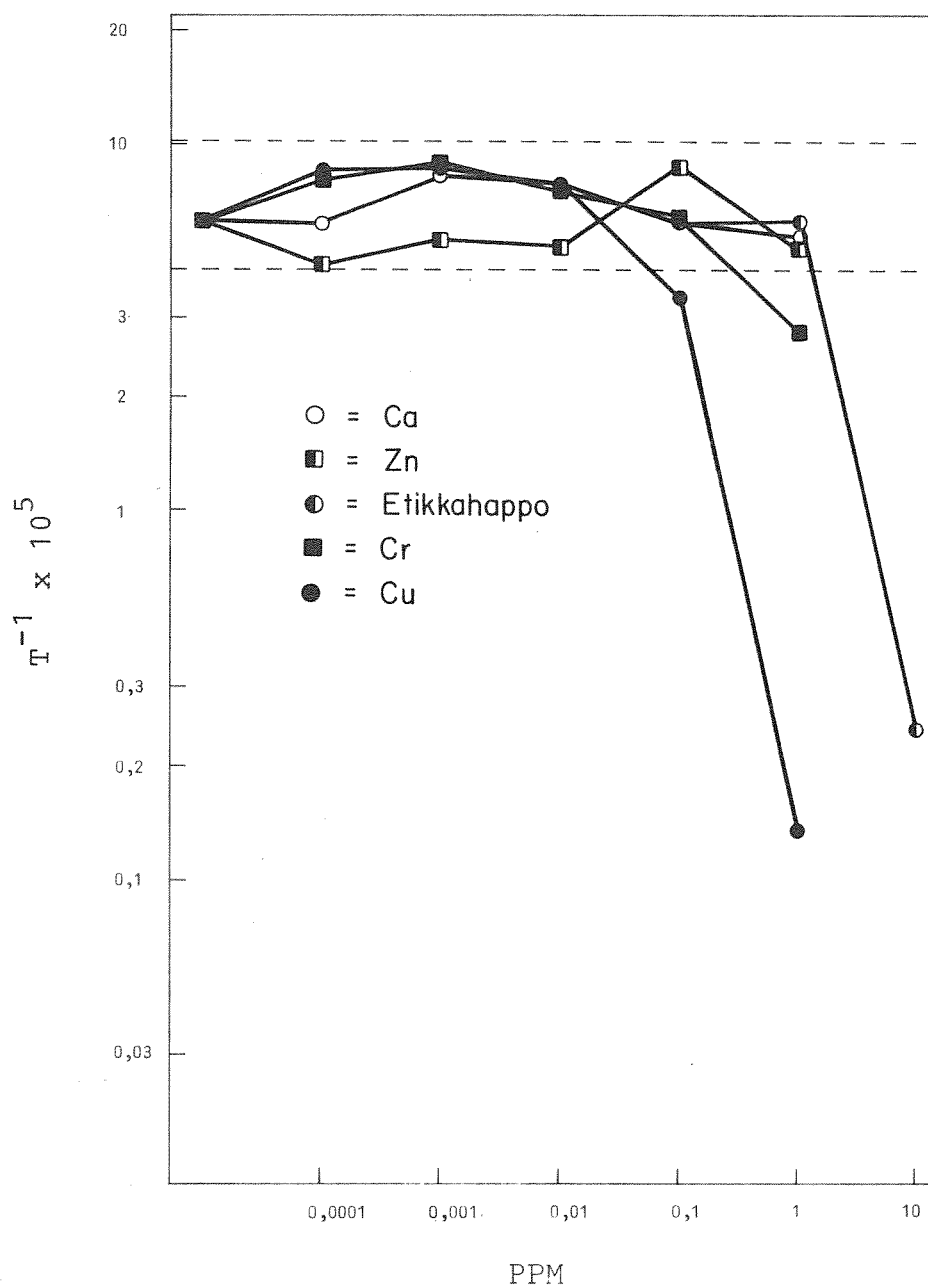
Etikkahappo aiheutti voimakkaan inhibition 10 ppm:n pitoisuudessa. Inhibitio aiheutui näytteen pH-muutoksesta, sillä aseen tiedetään olevan erinomainen hiilenlähde heterotrofeille.

Toisessa kokeessa käytettiin edelleen samoja yhdisteitä (kuva 32). Kupari osoittautui inhibitiiviseksi jo 0,0001 ppm:n pitoisuudessa, mutta inhibitiivisyys väheni 0,01 ppm:ssä kääntyen jälleen selvästi inhibitiiviseksi 0,1 ja 1,0 ppm:n pitoisuuksissa.

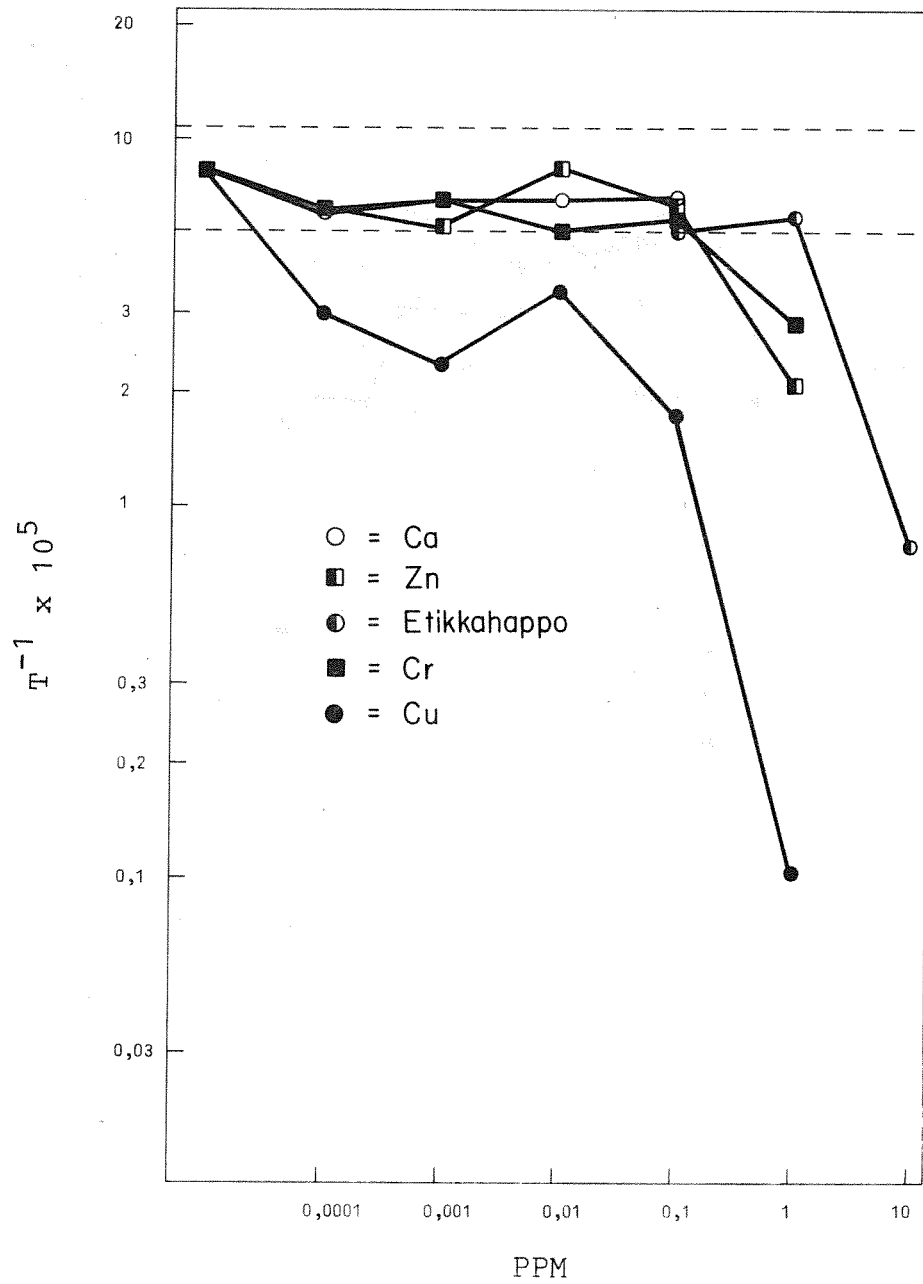
Kalsium osoittautui jälleen neutraaliksi yhdisteeksi. Tällä kertaa kuitenkin sinkki osoittautui kromia voimakkaammaksi inhibiittoriksi 1 ppm:n pitoisuudessa. Etikkahapon pH-vaikutus oli ensimmäisen kokeen kaltainen.

Kuparia lukuun ottamatta yhdisteiden satunnaisvaihtelu seuraa lähellä inhibitiorajaa, mikä johtuu perustason korkeasta hajotusnopeudesta. Perustason hajotusnopeus vaikuttaa yhdisteiden satunnaisvaihteluun verrattuna hieman "yläarvoiselta".

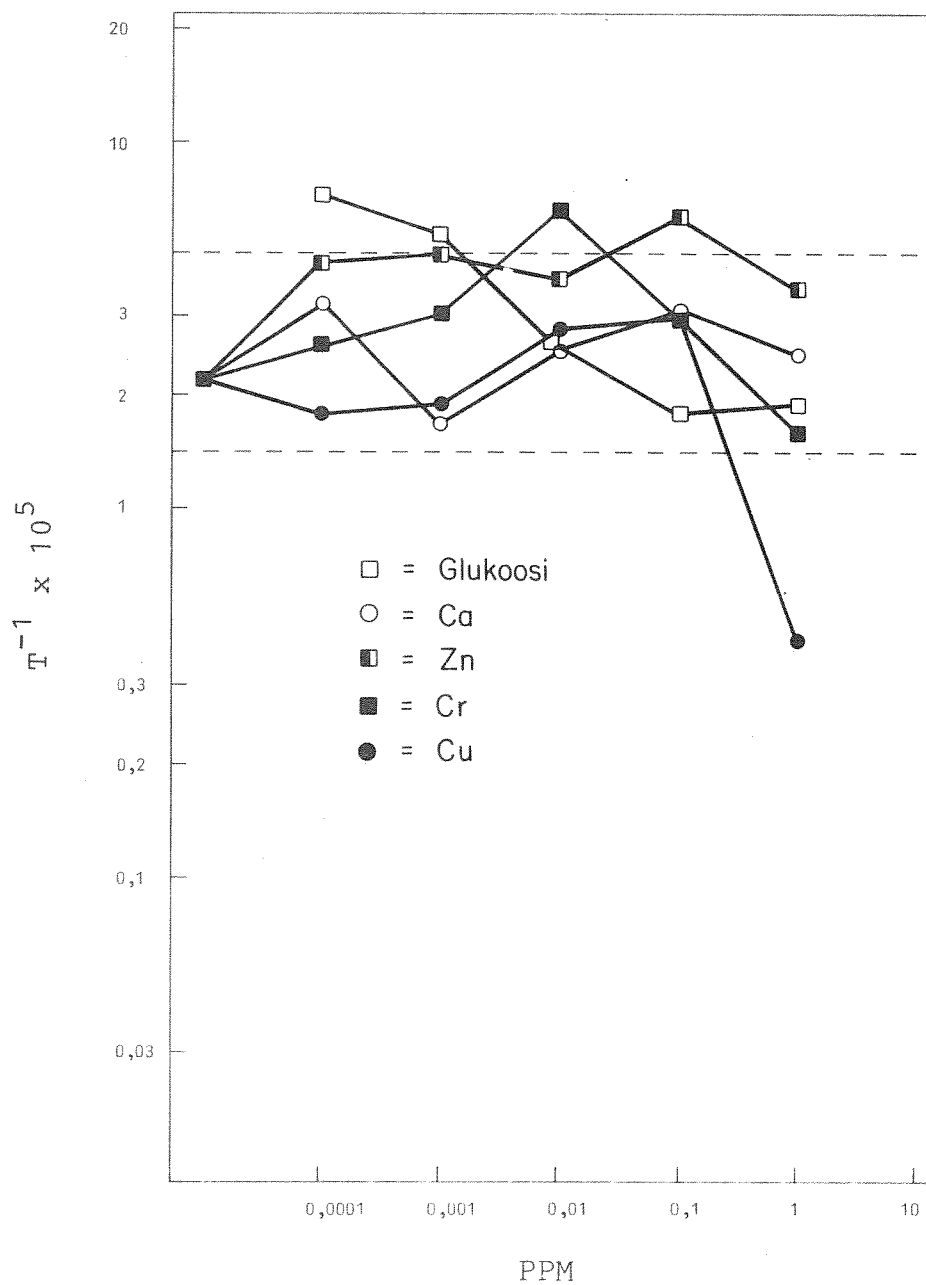
Kolmannessa kokeessa etikkahappo vaihdettiin glukoosiin, mikä on bakteereille erinomainen substraatti. Tällä koekerralla oli ilmeisiä vaikeuksia jakaa kokoomanäyte tasaisesti osanäytteiksi, mikä näkyy leveinä inhibitio- ja stimulaatorajoina (kuva 33). Myös testattavien yhdisteiden aiheuttamat rinnakkaisten osanäytteiden erot olivat muita koekertoja suuremmat.



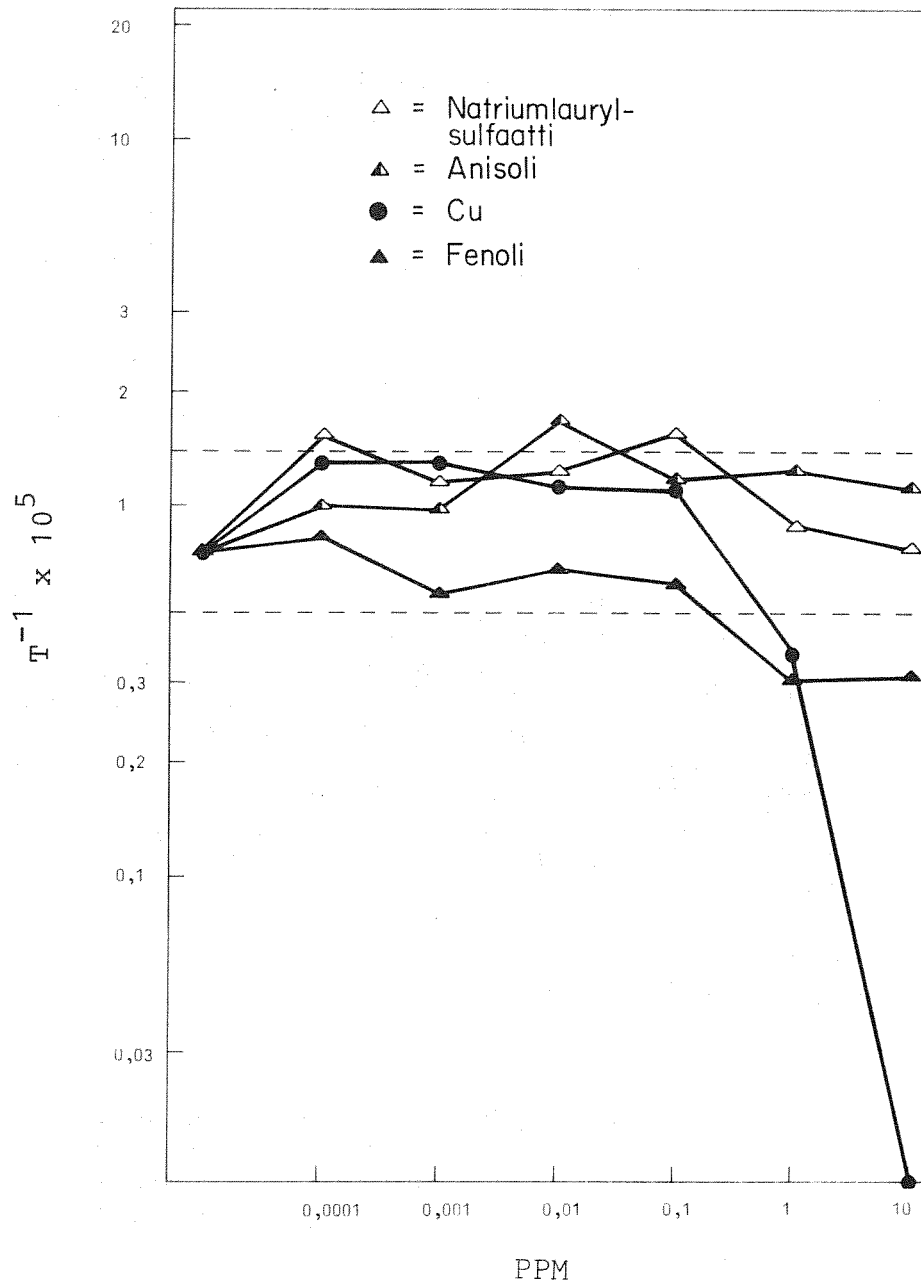
Kuva 31. Kalsiumin, sinkin, etikkahapon, kromin ja kuparin vaikutus hajotusnopeuteen Pyhäjärvessä (NP 10, 0-2 m) 20.8.1979



Kuva 32. Kalsiumin, sinkin, etikkahapon, kromin ja kuparin vaikutus hajotusnopeuteen Pyhäjärvessä (NP 10, 0-2 m) 24.8.1979



Kuva 33. Glukoosin, kalsiumin, sinkin, kromin ja kuparin vaikutus hajotusnopeuteen Pyhäjärvessä (NP 10, 0-2 m) 30.8.1979



Kuva 34. Natriumlaurylsulfaatin, anisolin, kuparin ja fenolin vaikutus hajotusnopeuteen Pyhäjärvessä (NP 10, 0-2 m) 14.10.1979

Kupari toimi jälleen hajotustoiminnan inhibiittorina, mutta vasta 1 ppm:n pitoisuudessa ja edellisiä kertoja lievemmin vaikutuksin. Kromi ja sinkki näyttivät stimuloivan bakteeritoimintaa 0,01 ja 0,1 ppm:n pitoisuuksissa. Kalsium ja glukoosi toimivat odotusten mukaisesti neutraaleina yhdisteinä.

Neljännellä koekerralla oli kuparin lisäksi testattavina yhdisteinä anisoli, fenoli ja natriumlaurylsulfaatti. Testin ajankohta ja käytettävät yhdisteet määräytyivät NORDFORSK:n yhteispohjoismaisen vertailukokeen perusteella.

Testattavista yhdisteistä aiheutti kupari jälleen selvän reaktion (kuva 34) eli inhibitio alkoi 1 ppm:n pitoisuudessa. Myös fenoli osoitti inhiboivan hajotusnopeutta 1 ppm:n pitoisuudessa, mutta inhibitio ei kasvanut pitoisuutta lisättäessä kuten kuparilla.

Anisoli ja natriumlaurylsulfaatti osoittautuivat bakteeritoimintaa lievästi stimuloiviksi alhaisilla pitoisuuksilla ja vielä 10 ppm:ssä neutraaleiksi yhdisteiksi.

3.3 TULOSTEN TARKASTELU

Kuvista 31 - 34 voidaan todeta testeissä käytettyjen pitoisuuksien olleen useiden yhdisteiden kohdalla niin alhaisia, että inhibitiota ei voitu todeta. Koska yhdisteiden todellisista pitoisuuksista Pyhäjärven ei ollut tietoa, valittiin pitoisuusasteikko arvion perusteella, kirjallisuustiedot (Albright ym. 1972, Orhon 1975, Lester ym. 1979) ja ekologinen relevanssi huomioon ottaen. Tulokset osoittavat, että lisäyksiä olisi pitänyt tehdä vähintään 20 ppm:n tasolle saakka. Useiden yhdisteiden kohdalla tosin 20 ppm:n pitoisuudet ylittävät kuormitusrealiteetin.

Elokuussa tehtyjen mittausten perusteella kuparin hajotusnopeutta inhiboiva vaikutus oli selvästi voimakkain. Inhibitio alkoi 0,1 - 1,0 ppm:n tasolla aiheuttaen hajotusnopeuden rajun putoamisen.

Kromin ja sinkin inhibitiivisyydessä ei havaittu selviä eroja. Kromi osoittautui kahdessa kokeessa 1,0 ppm:n pitoisuudessa inhibitiiviseksi ja sinkki yhdessä, mutta eräässä kokeessa kumpikaan yhdiste ei inhiboinut hajotusaktiviteettia 1,0 ppm:n pitoisuudessa.

Etikkahapon inhibitiovaikutus perustuu testiveden pH:n muutoksiin. Happamuuden vaikutuksesta heterotrofiseen toimintaan saatiin viitteitä myös Mäntän tehtaiden jätevesien vaikutuksia testattaessa (kohta 2.32).

Kalsium ja glukoosi eivät inhiboineet hajotusnopeutta vaan toimivat kumpainenkin neutraaleina yhdisteinä. Kalsiumilla ja glukoosilla saatuja tuloksia voidaankin pitää menetelmän luotettavuuden kannalta arvokkaina.

Lokakuussa tehdyssä kokeessa osoittautui kupari ainoaksi 1,0 ppm:n pitoisuudesta lähtien selvästi inhibitiiviseksi yhdisteeksi. Fenoli inhiboi myös 1,0 ppm:ssä, mutta inhibitio ei

kasvanut, kun fenolipitoisuus nostettiin 10 ppm:ään.

Sekä anisoli että natriumlaurylsulfaatti näyttivät kelpaavan bakteereille substraatiksi vielä 10 ppm:n pitoisuudessakin.

Toksisuustestien kannalta katsoen Tampereen Pyhäjärvi ei ole paras mahdollinen kohde, jos halutaan tietoja luonnonveden hajottajabakteerien reaktioista yhdisteisiin. Pyhäjärvi on jatkuvasti voimakkaan kuormituksen alaisena, joten sen bakteeristoa voidaan pitää kuormitukseen sopeutuneena tai kuormituksen vaikutuksesta selektoituneena, jolloin pienet toksisten yhdisteiden pitoisuudet eivät aiheuta inhibitiota.

Saadut tulokset sopivat sängen hyvin yhteen muualla tehtyjen tutkimusten kanssa. Niemi (1972) on tutkinut toksiinien vaikutusta murtoveden kasviplanktonin tuotantoon ja todennut kuparin ja syanidin aiheuttavan 50 %:n inhibition 0,1 ppm:n ja fenolin 2 - 10 ppm:n pitoisuuksissa.

Orhon (1975) tutki fotosynteesin ja respiraation avulla kuparin, lyijyn, elohopean ja sinkin toksisuutta. Tutkituista yhdisteistä tuli elohopean inhibitio esille 0,001 ppm:n, lyijyn 0,01 ppm:n ja kuparin 0,1 ppm:n pitoisuudessa. Sinkin inhibitio ilmeni edellisiä selvästi korkeammissa eli 1 - 10 ppm:n pitoisuuksissa.

Mowat (1976) tutki BOD₅- ja BOD₁₄-testeillä useiden raskasmetallien toksisuutta. Kun toksisuuden kriteerinä pidetään BOD-aktiivisuuden putoamista vähintään 30 %:n kontrollista, saadaan yhdisteiden toksisuudelle seuraava järjestys: Hg²⁺ ja Ag⁺ n. 1 ppm:ssä, Cu²⁺ ja Cr³⁺ n. 10 ppm:ssä ja Al³⁺ n. 10 - 20 ppm:ssä. Kaikkien em. metallien toksisuuden todettiin vähenevän BOD₁₄-testeissä kiintoainepitoisuuden lisääntyessä. Myös muutamissa BOD₅-testeissä havaittiin korkeiden kiintoainemäärien vähentävän metallien toksisia vaikutuksia.

Lester ym. (1979) tutkivat kemostaatissa neljän aktiivilietelaitokselta eristetyn bakteerilajin avulla kuparin, kadmiumin, lyijyn ja kromin toksisuutta, todeten yhdisteiden suhteellisen toksisuuden noudattavan em. järjestystä. Testeissä käytettyjen bakteerilajien herkkyys eri yhdisteille vaihteli, mutta joidenkin lajien todettiin olevan muita vastustuskykyisempiä. Bakteerilajien yksilölukumäärissä todettiin vaihteluja yhdisteiden 5 ppm:n pitoisuuksista lähtien.

Albright ym. (1972) tutkivat useiden metallisten suolojen vaikutusta luonnon bakteeripopulaatioihin radioaktiivisesti merkityn glukoozin avulla (Wright ja Hobbie 1966). Testatuista yhdisteistä osoittautui hopea toksisimmaksi (0,0001 ppm tasolla). Muiden yhdisteiden toksisuus (0,01 ja 0,1 ppm tasolla) noudatti toksisuusjärjestystä Cu > Ni > Hg > Cd > Pb > Zn > AsO₂⁻ > Ba > Cr. Neutraalina kontrolliyhdisteenä he käyttivät natriumia, jonka inhibitio 1 ppm:n pitoisuudessa oli alle 10 %.

Tulokset osoittavat heterotrofisten bakteerien hajotusnopeuden mittausmenetelmän soveltuvan screening-testinä myös erilaisten kemiallisten yhdisteiden toksisuuden toteamiseen. Hajotusnopeuden perusteella saadut tulokset sopivat hyvin yhteen kirjallisuudessa muilla menetelmillä saatujen tulosten kanssa.

Y H T E E N V E T O

A. Sulfiittiselluloosatehtaan jätevesien vaikutus vastaanottavan vesistön bakteeritoimintaan

1. Sulfiittiselluloosatehtaan (G.A. Serlachius Oy, Mänttä) jätevesien vaikutusta pintaveden (0-2 m) heterotrofisten bakteerien toimintaan tutkittiin Mäntän ylä- ja alapuoliossa vesistössä. Heterotrofiset bakteerit ovat pääasias-
sa vastuussa orgaanisen aineen hajotuksesta, joten nii-
den aktiviteetilla on suora yhteys vesistön tilaan; ra-
vinteiden kiertoon ja happitalouteen.
2. Hajotusnopeuden mittaamisessa käytetyn radioaktiivisen
merkkiaineen lisäys tapahtui riittävän alhaisella tasolla,
jotta merkkiaineen lisäyksellä ei vaikutettu näytteen bak-
teeritoimintaan.
3. Mäntän tehtaiden yläpuolinen vesistö, Keurusselän etelä-
pää, oli lähes luonnontilaisessa kunnossa.

Alapuolisessa vesistössä näkyi Mäntän tehtaiden voimakas
kuormittava vaikutus. Vilppulankoskessa (lähinnä tehdas-
ta ollut tarkkailupiste) ja Mustaselällä (voimakkaan re-
hevöitymisen alue) todettiin selvä perustuotantokyvyn in-
hibition. Mustaselällä oli hajotustoiminta vilkasta (glu-
koosin kiertoaika alle 10 tuntia) kaikissa syvyyksissä.
Tarjanneveden jätevettä laimentava vaikutus näkyi Kautun
kanavan lähellä olevan pisteen N 17 muuttujien arvoissa.
Jäteveden leviämisen seurannassa paras vesistömuuttuja oli
NaLS-pitoisuus.

4. Jätevesitesteissä todettiin 10 %:n ja 1 %:n jätevesipitoi-
suuksien aiheuttavan selvän inhibition näytepisteillä N 44,
N 31 ja N 17. Vilppulankoskessa (V) vasta 10 %:n jäteve-
sipitoisuus aiheutti inhibition. Useissa tapauksissa saa-
vutettiin puhtaiden alueiden näytteissä (N 44 ja N 17) in-
hibition jo 0,1 %:n jätevesipitoisuudessa.

Stimulaatiota esiintyi alhaisilla jätevesipitoisuuksilla
ainoastaan kahtena näytteenottokertana pisteellä N 17.

5. Tutkimustulokset antoivat viitteitä siitä, että näytteen
vetyionipitoisuudella on merkittävää vaikutusta hajotus-
toimintaan.
6. Suhteellisen korkeat hajotusaktiviteetit Vilppulankoskes-
sa ja Mustaselällä, joissa molemmissa oli perustuotantoky-
ky inhiboitunut, osoittivat bakteerien (tai tiettyjen bak-
teerilajien) sopeutuneen korkeisiin jätevesipitoisuuksiin.
7. Tutkimuksessa saadut tulokset osoittivat heterotrofisten
bakteerien hajotusnopeuden mittaamenetelmän soveltuvan
hyvin screening-testinä akuutin toksisuuden tutkimiseen.

Jäämäaineiden vaikutus bakteeritoimintaan

1. Tutkittiin eräiden raskasmetalli- ja orgaanisten yhdistei-

den vaikutusta Tampereen Pyhäjärven (piste NP 10) heterotrofisten bakteerien hajotusnopeuteen.

2. Testattavia yhdisteitä lisättiin näytteeseen 0,0001 - 10 ppm:n pitoisuuksissa. Useiden yhdisteiden kohdalla 10 ppm:n pitoisuus oli liian alhainen toksisuuden toteamiseksi.

3. Kupari inhiboi bakteeritoimintaa voimakkaimmin. Inhibitio alkoi yleensä 0,1 ppm:n pitoisuustasolla.

Kromin ja sinkin inhibitiivisyyden välillä ei havaittu selvää eroa. Inhibitio alkoi 1,0 ppm:n tasolla.

Näyteveden happamuudella oli selvä inhibitiivinen vaikutus bakteeritoimintaan.

Anisoli ja natriumlaurylsulfaatti eivät inhiboineet bakteeritoimintaa 10 ppm:n tasolla ja fenolin inhibitio 1,0 ja 10 ppm:n tasolla oli epäselvä.

Neutraalit kontrolliyhdisteet, kalsium ja glukoosi, eivät inhiboineet bakteeritoimintaa.

4. Tulokset osoittivat menetelmän soveltuvan screening-testinä myös erilaisten kemiallisten yhdisteiden akuutin toksisuuden toteamiseen.

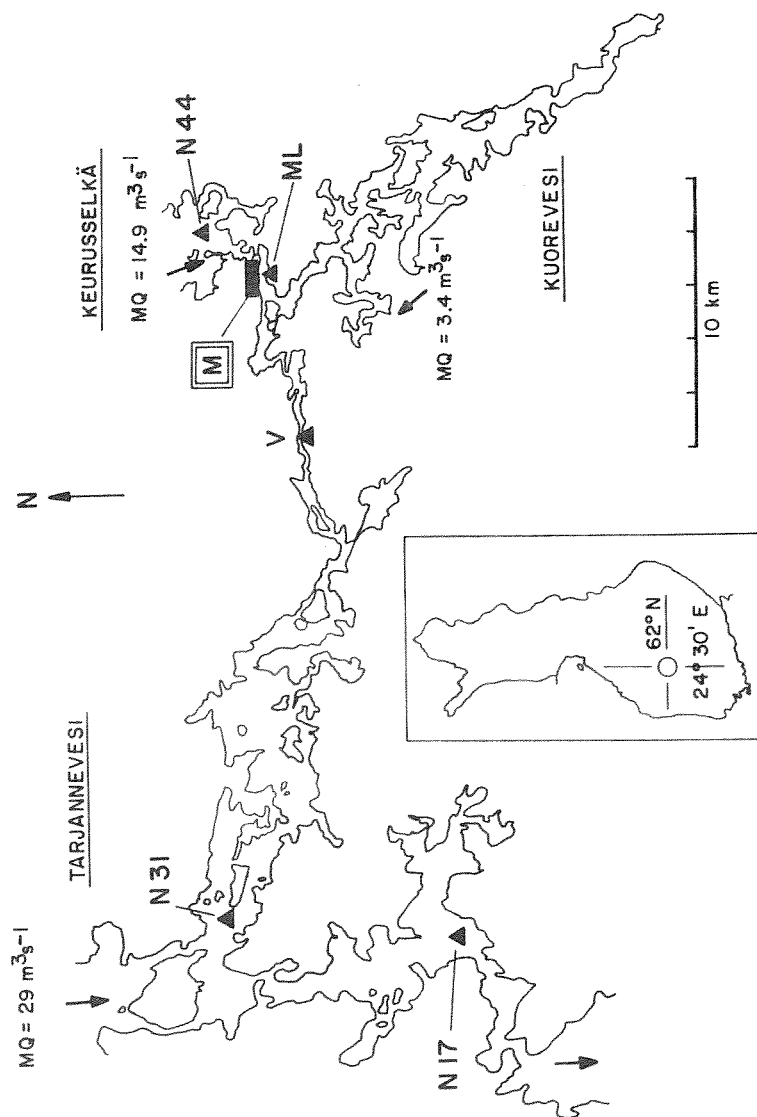
KIRJALLISUUS:

- ALBRIGHT, L.J., WENTWORTH, J.W. & WILSON, E.M., 1972
Technique for measuring metallic salt effects upon the indigenous heterotrophic microflora of a natural water. Water Res. 6: 1589 - 1596.
- AMES, B.N., LEE, F.D. & DVOSTON, W.E., 1973
An Improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70: 782 - 786.
- AZAM, F. & HOLM-HANSEN, O., 1973
Use of tritiated substrates in the study of heterotrophy in seawater. Mar. Biol. 23: 191 - 196.
- BALEUX, B., 1977
A computer study of the evolution of aerobic heterotrophic bacterial populations in sewage and river waters. Microbial. Ecol. 4: 53 - 65.
- BLANCH, H., 1978
Aquatic plants and algae. Pp. 13 - 19.
In: Blanck, H., Dave, G. and Gustafsson, K. (eds.)
An annotated literature survey of methods for determination of effects and fate of pollutants in aquatic environments. SNV PM 1050. Solna
- BLANCK, H., DAVE, G. & GUSTAFSSON, K. (eds.), 1978
An annotated literature survey of methods for determination of effects and fate of pollutants in aquatic environments. SNV PM 1050. Solna, 400 p.
- CHET, I. & MITCHELL, R., 1976
Petroleum hydrocarbons inhibit decomposition of organic matter in seawater. Nature 261: 308 - 309.
- DAVE, G., 1978
Aquatic animals. Pp. 101 - 325.
In: Blanck, H., Dave, G. and Gustafsson, K. (eds.).
An annotated literature survey of methods for determination of effects and fate of pollutants in aquatic environments. SNV PM 1050. Solna
- ELORANTA, P., 1972
On the phytoplankton of waters polluted by a sulphic cellulose factory. Ann. Bot. Fennici 9: 20 - 28.
- ELORANTA, V., 1978
Effects of different process wastes and main sewer effluents from pulp mills on the growth and production of Ankistrodesmus falcatus var. acicularis (chlorophyta). Mitt. Internat. Verein. Limnol. 21: 342 - 351.

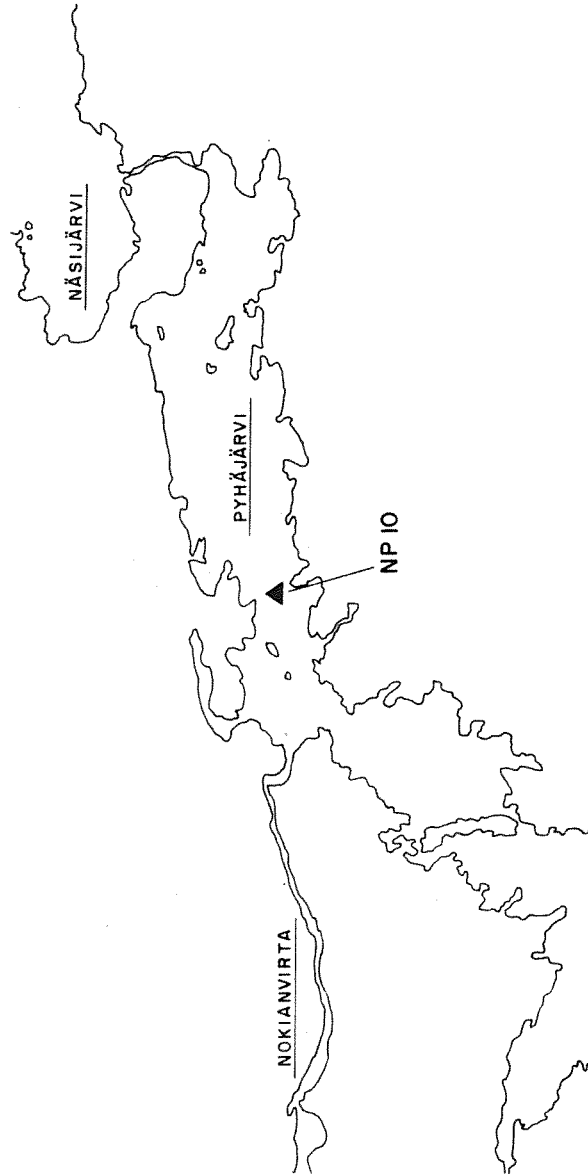
- ELORANTA, V., 1976 a
The influence of sulphate cellulose effluents on the growth of green algae.
Vatten 32: 20 - 37.
-
- 1976 b
Effects of different process wastes and main sewer effluents from pulp mills on the growth and production of Ankistrodesmus falcatus var. acicularis (chlorophyta).
Biol. Res. Rep. Univ. Jyväskylä 2: 3 - 33.
-
- & ELORANTA, P., 1974
Influence of effluents of sulphite cellulose factory on algae in cultures and receiving waters.
Vatten 1: 36 - 48.
- GOCKE, K., 1977
Comparison of methods for determining the turnover times of dissolved organic compounds.
Mar. Biol. 42: 131 - 141.
- GUSTAFSSON, K., 1978
Aquatic heterotrophic microorganisms. Pp. 327 - 398.
In: Blanck, H., Dave, G. and Gustafsson K. (eds.).
An annotated literature survey of methods for determination of effects and fate of pollutants in aquatic environments.
SNV PM 1050. Solna
- KUPARINEN, J. & UUSI-RAUVA, A., 1980
A simplified method to measure respiration rates of aerobic heterotrophic populations.
Hydrobiologia 75: 113 - 115.
- LAHTI, K., 1980
Eräiden bakteeri- ja levämyrkyllisyydestien vertailu puunjalostusteollisuuden jätevedellä. Limnologian pro gradu-työ.
Limnologian laitos, Helsinki
- LEE, D.R. & BUIKEMA, A.L., 1979
Molt-related sensitivity of Daphnia pulex in toxicity testing.
J. Fish. Res. Board Can. 36: 1129 - 1133.
- LESTER, N.J., PERRY, R. & DADD, A.H., 1979
The influence of heavy metals on a mixed bacterial population of sewage origin in the chemostat.
Water Res. 13: 1055 - 1063.
- MENTZEL, D.W. & CASE, J., 1977
Concept and design: Controlled ecosystem pollution experiment.
Bull. Mar. Sci. 27: 1 - 7.
- MOORE, J.E. & LOVE, R.J., 1977
Effect of a pulp and paper mill effluent on the productivity of periphyton and phytoplankton.
J. Fish. Res. Board Can. 34: 856 - 862.
- MOWAT, A., 1976
Measurement of metal toxicity by biochemical oxygen demand.
J. Water Pollut. Contr. Fed. 48: 853 - 866.

- NIEMI, A., 1972
Effects of toxicants on brackish-water phytoplankton assimilation.
Commentat. Biol. 55: 1 - 19.
- NORDFORSK, 1978
Toxicitetstester.
Nordforsk miljövårdssekreterariatet publ. 2. Helsingfors.
- OIKARI, A., 1979
Myrkyllisten aineiden aiheuttamista haitoista kaloissa ja kalastossa.
Auvinen, H. ja Muhonen, J. (toim.). Kalatalousvahinkojen arviointi, kompensointi ja korvaaminen.
Vesi- ja kalatalousmiehet ry., Helsinki
- OIKARI, A., SOIVIO, A., TUURALA, H., NYHOLM, K., KAJAVA, R. & MIETTINEN, V., 1979
Fysiologisia tutkimuksia likaantuneiden vesistöjen hauesta ja tulosten soveltuvuudesta veden laadun arviointiin.
Vesihallituksen tiedotuksia 166.
- ORHON, D., 1975
The lower trophic level toxicity assessment in the Golden Horn area in Istanbul.
Water Res. 9: 467 - 472.
- RAINVILLE, R.P., COPELAND, B.J. & MCKEAN, W.T., 1975
Toxicity of kraft mill wastes to an estuarine phytoplankter.
J. Water Pollut. Contr. Fed. 7: 487 - 503.
- RAMEL, C., 1978
Testing av mutagena och carsinogena effekter av kemikalier.
Toxicitetstester.
Nordforsk miljövårdssekreterariatet publ. 2: 41 - 43. Helsingfors.
- REMSSEN, C.C., BOWEN, V.T. & HONJO, S., 1974
Responses by open-ocean microorganisms to environmental pollution.
In: Colwell, R.R. and Morita, R.Y. (eds.).
Effect of the ocean environment on microbial activities.
Univ. Park Press., London.
- SALONEN, K., 1979
A versatile method for the rapid and accurate determination of carbon by high temperature combustion.
Limnol. Oceanogr. 24: 177 - 183.
- SCHMALTZ, J., 1979
Can Daphnia replace fish for bioassays?
Pulp & Paper Canada. 80: 224 - 228
- SEPPOVAARA, O. & NUMMINEN, S., 1974
The effect of municipal forest industry effluents upon algae production and the primary production ability of plankton.
Paperi ja Puu. 6: 523 - 530.
- SINGLETON, F.L. & GUTHRIE, R.K., 1977
Aquatic bacterial population and heavy metals - I. Composition of aquatic bacteria in the presence of copper and mercury salts.
Water Res. 11: 639 - 642.

- SOIVIO, A., OIKARI, A., MIETTINEN, V., CASTREN, M., RUOPPA, M. & TUURALA, H., 1979
Kalan fysiologisen tilan muutoksista puunjalostusteollisuuden vaikutusalueella.
Vesihallituksen tiedotuksia 166. Vesihallitus
- SOLYOM, P., 1976
Kontinuerlig övervakning av akuttoxicitet i avloppsvatten.
Vatten 2: 192 - 199.
- SOVERI, U-R., 1979
Kaloilla tehtävien toksisuustestien soveltamisesta automaattiseen biologiseen tarkkailuun.
Vesihallituksen tiedotuksia 174. Vesihallitus
- STENSEL, H.D., McDOWELL, C.S. & RITTER, E.D., 1976
An automated biological nitrification toxicity test.
J. Water Poll. Contr. Fed. 48: 2343 - 2350.
- STOCKNER, J.G. & COSTELLA, A.C., 1976
Marine phytoplankton growth in high concentrations of pulpmill effluent.
J. Fish. Res. Board Can. 33: 2758 - 2765.
- TALSI, T., 1981
Limnologian pro gradu-työ. Käsikirjoitus.
- TAMMINEN, T., 1980
Radioaktiivisten merkkiaineiden käyttömahdollisuudet vesistöjen hajotustoiminnan mittaamisessa.
Vesihallituksen monistesarja. (Painossa).
- THOMAS, W.H. & SEIBERT, D.L.R., 1977
Effects of copper on the dominance and the diversity of algae: Controlled ecosystem pollution experiment.
Bull. Mar. Sci. 27: 23 - 33.
- VARMA, M.M., WAN, L.W. & PRASAD, C., 1976
Acclimation of wastewater bacteria by induction or mutation selection.
J. Water Poll. Contr. Fed. 48: 832 - 834.
- VESIHALLITUS, 1978
Kokemäenjoen ja Karvianjoen vesistöjen vesien käytön kokonais-suunnitelma.
Vesihallituksen tiedotuksia 142. Vesihallitus
- WILLIAMS, P.J. LeB. & ASKEW, C., 1968
A method of measuring the mineralization by micro-organisms of organic compounds in sea-water.
Deep-Sea Res. 15: 365 - 375.
- WRIGHT, R.T., 1978
Measurement and significance of specific activity in the heterotrophic bacteria of natural waters.
Appl. Environ. Microbiol. 36: 297 - 305.
- _____ & HOBBIE, J.E., 1966
Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems.
Ecology 47: 447 - 464.



Kartta 1. Näytteenottopisteet Mäntän ylä- ja alapuolisessa vesistössä



Kartta 2. Tampereen Pyhäjärven näytteenottopiste